

PRÁCTICA INTERNACIONAL: ANÁLISIS AMBIENTAL DE TÉCNICAS DE CULTIVO IN VITRO, ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE AULA DEI

CINDY YULIANA TOBÓN RÍOS

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
ADMINISTRACIÓN AMBIENTAL
PEREIRA
2015

PRÁCTICA INTERNACIONAL: ANÁLISIS AMBIENTAL DE TÉCNICAS DE
CULTIVO IN VITRO, ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE AULA DEI

CINDY YULIANA TOBÓN RÍOS

Trabajo de grado para optar al título de Administradora Ambiental

Modalidad: Práctica empresarial

DIRECTOR
ANA MARÍA LÓPEZ GUTIÉRREZ
INGENIERA AGRONOMA Esp.,Msc.

ASESOR
PILAR ANDREU PUYAL
INVESTIGADOR CIENTÍFICO

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
ADMINISTRACIÓN AMBIENTAL
PEREIRA
2015

Nota de Aceptación

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

Pereira, 03 de Junio de 2016

A mis padres Orlando y Leticia,
hermanos Andrés y Milton, y a
mis tías Cecilia, Amanda y
Yolanda.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradecer al Departamento de Pomología de la Estación Experimental de Aula Dei (EEAD) por brindarme las herramientas y medios para llevar a cabo mi práctica y trabajo de grado. Especialmente a la Doctora Pilar Andreu, quien con su apoyo constante, dedicación y enseñanza fue guía y orientadora personal y profesional durante mi travesía.

A los investigadores Juan A. Marín, Arancha Arbeloa, María Elena García y María Pilar Lorente, no sólo por estar ahí para dar respuesta a mis dudas sino por hacerme sentir a gusto en un lugar que más que un lugar de trabajo, se convirtió en un lugar de aprendizaje.

Agradezco a los docentes que me acompañaron desde la distancia en todo este proceso y a aquellos que durante mi carrera mediante sus conocimientos y consejos hicieron de mí la persona que soy.

A mis compañeros de estudio a lo largo de mi carrera, amigas, amigos, pareja y por ultimo a toda mi familia, por ser mi compañía en esta etapa de mi vida y brindarme la oportunidad de alcanzar mis sueños, por su comprensión, amor incondicional, sabiduría y regaños soy mejor persona y Administradora ambiental.

CONTENIDO

GLOSARIO	9
RESUMEN	12
ABSTRACT	13
INTRODUCCIÓN	14
1 OBJETIVOS	15
1.1 OBJETIVO GENERAL	15
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
2 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA = OPORTUNIDAD	16
3 JUSTIFICACIÓN	16
4 MARCO REFERENCIA	17
4.1 Ubicación del Centro de Investigación	17
4.2 Antecedentes	19
4.3 Marco teórico	21
5 METODOLOGÍA	25
6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
6.1 Métodos y fases de la propagación vegetativa in vitro	29
6.2 Proceso de propagación vegetativa in vitro realizado en la EEAD	33
6.3 Relación Sociedad-Economía- Naturaleza en la realización de técnicas de cultivo in vitro	43
7 CONCLUSIONES	48
8 RECOMENDACIONES	49
9 BIBLIOGRAFÍA	50
10 ANEXOS	56

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Tasa de multiplicación del ciruelo Mirobolan.....	38
Tabla 2 Raíces por brote	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de la provincia Zaragoza en España.....	17
Figura 2. Estación experimental de Aula DEI (EEAD)	19
Figura 3. Cuadro de símbolos para la elaboración del diagrama de flujo.	26
Figura 4. Mapa conceptual de métodos de propagación vegetal in vitro	30
Figura 5. Flujograma de las fases de la propagación vegetativa in vitro.....	32
Figura 6. Procesos de propagación in vitro realizados en la EEAD	33
Figura 7. Melocotonero GF 305 cortado de la planta madre.....	36
Figura 8. Melocotonero GF 305 en medio nutritivo	36
Figura 9. Melocotonero GF 305 contaminado por hongo.....	36
Figura 10. Melocotonero GF 305, contaminación endógena.	36
Figura 11. Melocotonero GF 305 a las 4 semanas de instalación	37
Figura 12. Cámara de cultivo	37
Figura 13. Frasco con brotes de Ciruelo recién enraizados.....	39
Figura 14. Frasco con brotes de Ciruelo 4 semanas después de enraizados	39
Figura 15. “Jiffy pots” con sustrato Pindstrup.....	40
Figura 16. Ciruelo en “Jiffy pots” con sustrato.....	40
Figura 17. Plantas en aclimatación	41
Figura 18. Túnel de aclimatación mecánico.....	41
Figura 19. Modelo causal.....	44

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Formato cuestionario cerrado.....	136
Anexo B. Lista de encuestados y descripción.....	147
Anexo C. Ficha recopilatoria de métodos de propagación vegetativa in vitro	158
Anexo D. Ficha recopilatoria de fases de propagación vegetativa in vitro	168
Anexo E. Tabla de componentes y cantidades para 1L de MS y ME	164

Anexo F. Preparación del medio MURASHIG Y SKOOG (MS) Y ME	75
Anexo G. Esterilización material de campo a establecer	25
Anexo H. Características Melocotonero INRA-GF-305	297
Anexo I. Esterilización del equipo	488
Anexo J. Corte del material.....	49
Anexo K. Limpieza de frascos, tubos, tapas y otros recipientes	50
Anexo L. Ficha de recolección de información bibliográfica de enfoques de Desarrollo sustentable	561
Anexo M. Resultados cuestionarios cerrados, objetivo 3.....	486

GLOSARIO¹

Ácido abscísico: hormona vegetal que juega un papel regulador del crecimiento. También conocido con el diminutivo ABA, este sesquiterpeno -formado por 15 carbonos- favorece la relajación de los brotes y de los granos y provoca el cierre de las aberturas en la epidermis de las hojas, en caso de deshidratación de la planta.

Ácido giberélico: potente hormona cuya presencia natural en plantas controla su desarrollo.

Agar: Sustancia mucilaginosa que se extrae de algunas algas, utilizada como medio de cultivo, en farmacia, en bacteriología y en ciertas industrias.

Ápice: Extremo superior o punta de algo

Asepsia: Ausencia de materia séptica, estado libre de infección.

Auxina: Hormona vegetal que ocasiona el crecimiento de las plantas por elongación celular.

Axénico: Dicho de un cultivo o de un microorganismo: Que se desarrolla en un ambiente donde no hay ningún otro organismo vivo.

Bacteriostático: se refiere a filtros que no permiten la reproducción de microorganismos.

Brote: Pimpollo o renuevo que empieza a desarrollarse.

Bulbo: Es un órgano subterráneo especializado, que consiste en un tallo axial, corto, carnosos, generalmente vertical (platillo basal) que lleva en su ápice un meristema o un primordio floral y que está recubierto por escamas gruesas y carnosas.

Citocinina o citoquinina: Polipéptido responsable del crecimiento y la diferenciación de distintos tipos de células.

Cutícula: capa cerosa externa a la planta que la protege de la desecación a la que es expuesta en la atmósfera terrestre, además de proveer una barrera para la entrada de bacterias y hongos.

¹ Realizado a partir del Diccionario de la Real Academia Española y de EcuRed.

DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich): Prueba serológica que emplea complejos enzima-anticuerpo, a los que se denomina conjugados enzimáticos. Es utilizado para la identificación de virus fitopatógenos.

Desdiferenciación celular: Proceso de desarrollo inverso en el que las células diferenciadas terminales con funciones especializadas regresan a una fase menos diferenciada dentro de su propio linaje de la célula.

Embriogénesis somática: formación de un embrión a partir de una célula, sin la necesidad de la fusión de gametos.

Explante: Tejido vivo separado de su órgano propio y transferido a un medio artificial de crecimiento.

Fisiología: Ciencia que tiene por objeto el estudio de las funciones de los seres orgánicos.

Fotoperiodo: Cantidad de tiempo al día en que un animal o una planta está expuesto a la luz.

Giberelina: Hormonas de crecimiento diterpenoides tetracíclicos involucrados en varios procesos de desarrollo en vegetales.

Meristemo: Tejido embrionario formado por células indiferenciadas, capaces de originar, mediante divisiones continuas, otros tejidos y órganos especializados.

Morfogénesis: Es el proceso por el cual un grupo de embriones determinan el desarrollo de los órganos, tejidos o células individuales del organismo de los seres vivos, como también las características y funciones particulares de cada uno de esos componentes.

Ontogenia: Desarrollo del individuo, referido en especial al período embrionario.

Perlita: Roca compuesta de feldespatos y silicato de alúmina, de color gris azulado y textura compacta, que se emplea como piedra de construcción.

Plantón: Pimpollo o arbolito nuevo que sirve para ser trasplantado. Estaca o rama de árbol plantada para que arraigue.

Radicular: Perteneciente o relativo a las raíces.

Reacción en cadena polimerasa (PCR): Técnica "in vitro" que imita la habilidad natural de la célula de duplicar el ADN.

Tensoactivo: Dicho de un compuesto que reduce la tensión superficial del líquido al que se añade.

Trips: Son un orden de insectos pterigógenos de metamorfosis sencilla, diminutos, de 0,5 a 8 milímetros de longitud, con aparato bucal dispuesto para la succión, ápteros o con cuatro alas membranosas iguales, de escasas nerviaciones, pero con el borde franjeado de pelos, y con las patas provistas de unos pelotas adhesivas al final de los tarsos. Son frecuentemente partenogenéticos y se alimentan chupando los jugos de las plantas, a las cuales dañan también por actuar como transmisores de virus vegetales.

Variación somaclonal: Variación de origen nuclear y/o citoplasmática, que ocurre en los procedimientos de cultivo de tejidos y que podría ser utilizada para el mejoramiento vegetal.

Vástago: Renuevo o ramo tierno que brota del árbol o de otra planta.

Vermiculita: Material mineral de estructura escamosa que se obtiene por calentamiento de la mica y se utiliza como aislante y adsorbente.

Yema: Brote embrionario de los vegetales constituido por hojas o por esbozos foliares a modo de botón escamoso del que se desarrollarán ramas, hojas y flores.

RESUMEN

El presente trabajo se realiza a partir de la práctica empresarial efectuada en el Departamento de Pomología, de la Estación Experimental de Aula Dei (EEAD), Centro de investigación del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) en Zaragoza, España. Históricamente en la Universidad Tecnológica de Pereira no se ha presentado ningún trabajo relacionado con la implementación de técnicas de cultivo in vitro en la modalidad de práctica empresarial, motivo por el cual es necesario ampliar la información acerca de esta área del conocimiento.

El objetivo del trabajo es analizar las técnicas de cultivo in vitro de especies frutales desde la visión de la Administración ambiental, mediante un análisis integral que abarque no solo aspectos técnicos sino también aspectos económicos, sociales y ecológicos, que influyen en las motivaciones y componentes que forman parte del sistema relacionado con la biotecnología vegetal.

Mediante la aplicación de una metodología de carácter cualitativo, con el empleo técnicas como la entrevista, observación participante, encuesta y recopilación bibliográfica, se describen las fases de desarrollo de cultivo in vitro, que incluyen el establecimiento de cultivos viables y axénicos, el mantenimiento y aumento en la cantidad de brotes, la inducción en la formación de raíces y el paso del cultivo desde el frasco con medio nutritivo y humedad del 100% a la maceta con sustrato.

Sumado a lo anterior se identifican y explican los diferentes métodos o formas de cómo lograr su implementación mediante el uso de un flujograma; y el paso de lo teórico a lo práctico se refleja en la explicación de cada uno de los pasos del proceso de propagación vegetativa in vitro realizado en la EEAD, para lo cual se experimentó con especies como el ciruelo y melocotonero, especificando su comportamiento en cada fase de la técnica.

Finalmente la interdisciplina y visión sistémica promulgada por la Facultad de Ciencias Ambientales de la Universidad Tecnológica de Pereira, permite la identificación de relaciones causa-efecto en las dimensiones sociales, económicas y ecológicas, que en torno a la implementación de técnicas de cultivo in vitro para la micropropagación de especies vegetales, sustenta como un solo elemento influye positiva o negativamente en la dinámica del sistema y como esta biotecnología vegetal puede aportar o no al desarrollo sustentable.

Palabras clave: Biotecnología vegetal, Cultivo in vitro, Dimensión ecológica, Dimensión económica, Dimensión social, Micropropagación.

ABSTRACT

This work is done as a result of the business practice in the Department of Pomology of Aula Dei Experimental Station (EEAD) that belongs to the Spanish National Research Council (CSIC) in Zaragoza, Spain. There has not been any previous work at the Technological University of Pereira related to the subject of this work, reason why it is necessary to expand the information about this area of knowledge.

The objective of the work is to analyze the in vitro culture techniques of fruit tree species, from the point of view of environmental management, through a comprehensive analysis covering not only technical aspects, but even economic, social and ecological aspects that affect the motivations and components that are part of this system related to plant biotechnology.

Through the application of a qualitative methodology, using techniques such as interview, participant observation, survey and bibliographic search, it is possible to describe the stages of development of in vitro culture, including the establishment of viable and axenic cultures, the maintenance and increase in the number of cultured shoots, the induction and the formation of roots and the transfer of the new cultures plants from the flask with nutritive medium and in an environment close to 100% humidity to pots with substrate under outside conditions.

Besides that, different methods and ways of doing are identified and described on of how to achieve implementation through the use of a flow chart; and the transition from theory to practice is shown in the explanation of each of the steps of in vitro plant propagation process made at the EEAD, for which is experimented with species such as plum and peach trees, specifying their behavior in every phase of the technique.

Finally the interdisciplinary and systemic vision promulgated by the Faculty of Environmental Sciences at the Technological University of Pereira, allows the identification of cause-effect relationships in social, economic and ecological dimensions, around the implementation of techniques of in vitro culture for micropropagation of plant species; it sustains, positively or negatively, influences as a single element on the dynamics of the system and how this plant biotechnology can contribute or not to sustainable development.

Key words: Ecological dimension, Economic dimension, In vitro culture, Micropropagation, Plant biotechnology, Social dimension.

INTRODUCCIÓN

El ser humano desde sus inicios se ha adaptado a un sistema caracterizado por constantes cambios, que han favorecido el desarrollo de medios y herramientas para afrontar situaciones y aprovechar oportunidades. A esta lucha por dominar el medio que le rodea mediante el uso del saber y del trabajo, se le conoce como tecnología, y se ha convertido en parte de su rutina.

El uso de la tecnología sobre los seres vivos, conocida como biotecnología ha favorecido el desarrollo de conocimientos, bienes y servicios, que facilitan al hombre su continuo vivir. En la actualidad los problemas ambientales asociados al cambio climático, la contaminación de los recursos agua, suelo y aire, requieren del uso de la biotecnología como alternativa para su solución, siendo el cultivo in vitro una biotecnología vegetal capaz de utilizarse para la mitigación y prevención de estos problemas.

Ciertamente el uso del cultivo in vitro ha generado conflicto, debido a su asociación con plantas transgénicas y a los problemas sociales, económicos y naturales derivados de ese uso. No obstante, el cultivo in vitro utilizado para la micropropagación, permite un incremento considerable en la producción vegetal, reduciendo el tiempo y la generación de plantas cultivables en lugares ambientalmente inadaptados para ciertas especies, además favorece la conservación de especies vegetales y el aumento de la diversidad de alimentos en el mercado.

Es por ello que esta biotecnología vegetal debe analizarse desde una perspectiva sistémica e interdisciplinar que permita determinar la relación causal en su implementación ante variables del tipo social, económico y natural; evaluando aspectos tanto positivos como negativos de la propagación vegetativa in vitro, partiendo de bases teórico- prácticas y continuando con un análisis general.

El presente documento comprende el proceso formativo desarrollado en el Departamento de Pomología, de la Estación Experimental de Aula Dei (EEAD), que hace parte del Centro Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) en Zaragoza, España. Realizado mediante la aplicación de una metodología de carácter cualitativo, con el empleo técnicas como la entrevista, la observación participante, la encuesta y recopilación bibliográfica; que permiten describir las fases y métodos de desarrollo de cultivo in vitro, los procesos realizados en la EEAD y el análisis sistémico.

1 OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Analizar las técnicas de cultivo in vitro de especies frutales, desde la visión de la Administración ambiental, efectuadas en la Estación Experimental de Aula Dei, CSIC, Zaragoza.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir fases (Introducción o establecimiento, multiplicación, enraizamiento y aclimatación) y métodos de la propagación vegetativa in vitro.
- Explicar los procesos que soportan la investigación en la Estación Experimental de Aula Dei.
- Identificar la relación Sociedad- Economía- Naturaleza en el uso de Cultivo in vitro como biotecnología vegetal.

2 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA = OPORTUNIDAD

La realización de la práctica internacional en una organización que busca aportar al sector agrícola materiales y tecnologías para aumentar su competitividad y sostenibilidad; favorece al Administrador Ambiental tanto el manejo de técnicas de cultivo in vitro como el análisis de las mismas para el desarrollo social, económico y natural.

3 JUSTIFICACIÓN

El Administrador Ambiental de la Universidad Tecnológica de Pereira es un “Gestor Ambiental que promueve a partir de sus valores, habilidades y destrezas, los nuevos conocimientos, axiología, estrategias y técnicas que exigen la nueva dimensión ambiental del desarrollo; abordándola como un objeto de estudio complejo...”²

Entre la nueva dimensión ambiental del desarrollo, la biotecnología vegetal se ha convertido en una herramienta para impulsar conocimientos, bienes y servicios. No obstante, la relación equivoca de biotecnología vegetal con plantas transgénicas ha conllevado a observar la aplicación de la tecnología a las plantas como un problema ambiental y no como una alternativa para la solución de los mismos.

La implementación de técnicas de cultivo in vitro, como biotecnología capaz de generar beneficios a agricultores, empresas, investigadores, mercado y a la sociedad en general; aportando paralelamente a la dinámica de componentes biofísicos como el suelo, agua, aire y biodiversidad, genera la necesidad de profundizar en el tema, teniendo en cuenta la aplicación técnica y metodológica que implica el trabajo con este tipo de cultivos, sumado al instrumento de apoyo denominado Administración Ambiental.

El acercamiento del Administrador ambiental a las técnicas, materiales y métodos relacionados con el cultivo in vitro, sumado a los conocimientos previos, favorecen una visión sistémica e interdisciplinar; por lo que la estancia en la Estación Experimental de Aula Dei es una excelente oportunidad para profundizar en el uso de la biotecnología vegetal, como alternativa a problemas sociales, económicos y naturales.

² UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA, Perfil Administración Ambiental, 2014, <http://ambiental.utp.edu.co/administracion-ambiental/perfil.html> [Consulta: Martes, 8 de Septiembre de 2015]

4 MARCO REFERENCIA

4.1 Ubicación del Centro de Investigación

“La Estación Experimental de Aula Dei (EEAD) se halla ubicada en la carretera a Montañana a 13 Kms. del Centro de Zaragoza, España (Figura 1) en la ribera del río Gállego y muy próximo a la Cartuja de Aula Dei de la que toma el nombre”³.

Figura 1. Ubicación de la provincia Zaragoza en España



Fuente: Instituto Geográfico Nacional de España

El centro pertenece al Área de Ciencias Agrarias del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Organismo de Investigación a nivel Nacional, siendo el Departamento de Pomología el promotor de cultivo in vitro de especies frutales.

³ ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE AULA DEI, Presentación EEAD, <http://www.eead.csic.es/web/guest/home/who-we-are?sessionId=779DB3484D230BBACD26A391D3855DE8>, [Consulta: Martes, 8 de Septiembre de 2015]

La Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) es la mayor institución pública dedicada a la investigación en España y la tercera de Europa. Adscrita al Ministerio de Economía y Competitividad, a través de la Secretaría de Estado de Investigación, Desarrollo e Innovación, su objetivo fundamental es desarrollar y promover investigaciones en beneficio del progreso científico y tecnológico, para lo cual está abierta a la colaboración con entidades españolas y extranjeras. Según su Estatuto (artículo 4), tiene como misión el fomento, coordinación, desarrollo y difusión de la investigación científica y tecnológica, de carácter pluridisciplinar, con el fin de contribuir al avance del conocimiento y al desarrollo económico, social y cultural, así como a la formación de personal y al asesoramiento de entidades públicas y privadas en esta materia.⁴

Uno de los institutos de investigación perteneciente al Área de Ciencias Agrarias del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), es la Estación Experimental de Aula Dei (Figura 2). De acuerdo a su presentación la EEAD⁵ busca aportar al sector agrícola materiales y tecnologías para aumentar su competitividad y sostenibilidad, en base a procesos implicados en la producción vegetal. Esta misión se concreta en la obtención de resultados para los sectores agroalimentario, biotecnológico y medioambiental que se resumen en incremento de la productividad de los cultivos, especialmente de zonas templadas semiáridas; desarrollo de tecnologías para la sostenibilidad del medio ambiente y el incremento de la calidad y valor añadido de los productos agrícolas. Esta misión abarca la investigación científica básica de calidad, la formación de personal científico y técnico, la asesoría a los sectores privados y entes públicos, y la difusión de resultados a la sociedad.

⁴ CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC), Presentación, <http://www.csic.es/presentacion>, [Consulta: Martes, 8 de Septiembre de 2015]

⁵ ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE AULA DEI, Presentación EEAD, <http://www.eead.csic.es/web/guest/home/who-we-are.jsessionid=779DB3484D230BBACD26A391D3855DE8>, [Consulta: Martes, 8 de Septiembre de 2015]

Figura 2. Estación experimental de Aula DEI (EEAD)



Fuente: Propia

4.2 Antecedentes

La tecnología y su aplicación en los diferentes campos de la ciencia se han convertido en uno de los aspectos fundamentales para la adaptación del ser humano a su entorno, en la búsqueda de suplir sus necesidades y subsistir dentro del sistema. Uno de los primeros acercamientos al manejo e intervención de seres vivos, se llevaron a cabo mediante la agricultura, y es gracias a su adaptación a cada continente, país e inclusive localidad la que hace de ésta una actividad fundamental para la sociedad presente y las generaciones futuras. Sin embargo con los problemas actuales asociados a la contaminación, cambio climático y al aumento de la población, es necesaria la búsqueda de alternativas complementarias.

Pierik ⁶ afirma que cuando se habla del cultivo de plantas, generalmente se asocia a cultivos en macetas, arriates, invernaderos o en el campo. El cultivo de plantas se subdivide actualmente en las disciplinas de agricultura, horticultura, agricultura

⁶ PIERIK, R.L.M. Cultivo in vitro de las plantas superiores. Madrid. 1990. P. 13-15.

tropical y mejora de plantas. En 1904 Hanning desarrolló un nuevo método de cultivo de plantas al que se llamó cultivo de embriones. Aisló, in vitro, embriones inmaduros de algunas especies de la familia de las Crucíferas, obteniendo plántulas viables. Nuevos tipos de cultivo in vitro se han hecho populares desde 1920, como el cultivo in vitro a partir de semillas, el cultivo de callos, el cultivo de órganos, etc. Después de 1945 todos estos diferentes tipos de cultivo se agruparon bajo el término colectivo de cultivo in vitro de tejidos de plantas.

Desde 1975 el cultivo in vitro de las plantas superiores ha experimentado un espectacular desarrollo. En los laboratorios de investigación se han desarrollado nuevos métodos para el cultivo de plantas, semillas, embriones, ápices caulinares, meristemos, tejidos, células y protoplastos, sobre medios nutritivos estériles, con el resultado de producción y regeneración de individuos viables de muchas especies de plantas; y desde 1980 ha habido una explosión en el desarrollo de la manipulación genética y técnicas de biotecnología.

“El debate social que se ha abierto en torno a las plantas transgénicas, con amplia difusión en los medios de comunicación, lleva en muchas ocasiones y de forma errónea a considerar que la transformación genética es la única biotecnología aplicable en agricultura, olvidando así que la biotecnología es mucho más amplia y se usa actualmente en numerosas aplicaciones”⁷; siendo considerada fundamental en la investigación vegetal actual.

La investigación es definida por Ander-Egg (Citado por Cruz Batista⁸) como “un procedimiento reflexivo, sistemático, controlado y crítico que tiene por finalidad descubrir o interpretar los hechos y fenómenos, relaciones y leyes de un determinado ámbito de la realidad...-una búsqueda de hechos, un camino para conocer la realidad, un procedimiento para conocer verdades parciales,-o mejor-, para descubrir no falsedades parciales”.

Uno de los organismos que en España busca fortalecer el campo de la investigación es el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), abarcando en Zaragoza la Estación Experimental de Aula Dei (EEAD), la cual cuenta con un Departamento de Pomología, centrado en el desarrollo de tecnologías de cultivo y estudios de especies frutales. El grupo de cultivo in vitro ha demostrado su capacidad de formación con estudiantes que han realizado sus Proyectos Fin de Carrera en el caso de Ingenieros Agrícolas, Tesis Doctorales en el caso de estudiantes de Biología o trabajos de Fin de Master en el caso de estudiantes de Master realizados en el CIHEAM (Centro Internacional de Altos

⁷ NAVARRO, L. y JUÁREZ, J. Aplicaciones de la biotecnología en los cítricos y otros cultivos. <http://www.ivia.es/sdta/pdf/revista/citricos/17tema11.pdf>. [Consulta: Jueves, 10 de Septiembre de 2015]

⁸ CRUZ BATISTA, Yalenys. Las investigaciones sociales. Rasgos esenciales. <http://www.eumed.net/rev/cccss/20/ycb.html>. [Consulta: Lunes, 21 de Septiembre de 2015]

Estudios Agronómicos Mediterráneos) conectado con la Universidad de Lérida, dirigidos por los investigadores del grupo. Todos los trabajos realizados han tratado distintos aspectos del cultivo in vitro, siendo esta la primera vez que un estudiante de Administración Ambiental o en relación con la Administración realiza su proyecto en el Departamento de Pomología, lo que favorece una visión diferente del trabajo práctico a realizar.

Por otro lado la base de datos de la biblioteca de la Universidad Tecnológica de Pereira⁹, al emplear como palabra clave “In vitro” y restringir a ejemplares de Tesis, arroja 23 resultados, de los cuales:

- Ninguno corresponde a la modalidad de Práctica empresarial.
- Uno fue realizado por la Facultad de Ciencias Ambientales en el año 2014: Caracterización de dos genotipos de heliconias propagadas in vitro y estabilidad genética de *H. caribaea* mediante marcadores moleculares AFLP. Lina María Londoño Giraldo, Maestría en Biología Vegetal.
- Aproximadamente el 69% de los trabajos fueron realizados por programas de la Facultad de Tecnologías, específicamente Tecnología Química y Química Industrial.

Lo anterior implica que los trabajos realizados por el programa de Administración ambiental en relación al cultivo in vitro, hasta el momento, son nulos; siendo explorados en mayor medida por la Facultad de Tecnologías. Es por esta razón que la práctica en la Estación Experimental de Aula Dei, provee no solo una aproximación a las técnicas de cultivo in vitro sino la oportunidad de profundizar en el tema desde la visión y perspectiva de la Administración Ambiental, favoreciendo así una base para trabajos futuros relacionados con el tema.

4.3 Marco teórico

La biotecnología se define como “La aplicación de la ciencia y la tecnología a organismos vivos, así como a parte de ellos, productos y modelos, para alterar material vivo y no vivo, para la producción de conocimiento, bienes y servicios”¹⁰. Entre sus clasificaciones se utiliza una por colores, la cual permite organizar los tipos de biotecnología según elementos conceptuales, proponiendo de esta forma la biotecnología roja, la biotecnología verde, la biotecnología blanca y la biotecnología azul.

⁹ UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA. Base de datos de la biblioteca. [Consulta: Miércoles, 23 de Septiembre de 2015]

¹⁰ The Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). A framework for biotechnology statistics. 2005.

Para la OECD (Citado por el Centro de Biotecnología y genómica de plantas¹¹), “La aplicación de la ciencia y la tecnología a las plantas, sus partes, productos y modelos con el fin de alterar materiales vivos o inertes para el desarrollo de conocimiento, bienes y servicios”, se conoce con el nombre de biotecnología verde, y entre las muchas aplicaciones se encuentra el cultivo in vitro de las plantas superiores.

Según Pierik ¹² el cultivo in vitro se define como el cultivo sobre un medio nutritivo, en condiciones estériles, de plantas (siembra de la semilla in vitro), embriones (se cultiva el embrión aislado después de retirar el resto de los tejidos de la semilla), órganos (cultivo de meristemos, ápices del vástago, raíces, anteras, etc.), callos (porción de tejido que se desdiferencia in vitro), células (crecimiento de células individuales con la ayuda de enzimas o mecánicamente) y protoplastos (a partir de células por digestión enzimática de la pared celular) de plantas superiores.

Estas técnicas se caracterizan porque:

1. Ocurren a micro-escala i.e. sobre una superficie relativamente pequeña.
2. Se optimizan las condiciones ambientales, en lo que se refiere a los factores físicos, nutricionales y hormonales.
3. Se excluyen todos los micro-organismos (hongos, bacterias y virus), así como también las plagas de las plantas superiores (insectos y nematodos).
4. Generalmente no se reproduce el patrón normal de desarrollo de una planta, resultando que un tejido aislado puede dar origen a un callo, o puede desarrollarse de otras formas poco usuales (por ejemplo, formación de órganos, embriogénesis somática).
5. La capacidad de cultivar protoplastos (células vegetales desprovistas de pared celular) o células individuales permite manipulaciones que antes eran imposibles.
6. El nombre de cultivo in vitro (que literalmente quiere decir “en vidrio”), se utilizó porque, al menos inicialmente, se usaron recipientes de vidrio para el cultivo.¹³

En la actualidad, de acuerdo al Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología¹⁴, es posible encontrar una serie de modalidades de esta técnica tales como la propagación vegetativa, la obtención de plantas libres

¹¹ CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA Y GENÓMICA DE PLANTAS. Itinerario curricular: Biotecnología de plantas. http://www.cbgp.upm.es/archivos/noticias/Itinerario_Biotecnologia_Plantas_RED.pdf. [Consulta: Martes, 15 de Septiembre de 2015]

¹² PIERIK, R.L.M. Cultivo in vitro de las plantas superiores. Madrid. 1990. P. 15 y 35.

¹³ Ibíd., p. 15-16

¹⁴ CONSEJO ARGENTINO PARA LA INFORMACIÓN Y EL DESARROLLO DE LA BIOTECNOLOGÍA. Cultivo in vitro de plantas y su relación con la Biotecnología. 2007, <http://porquebiotecnologia.com.ar/index.php?action=cuaderno&opt=5&tipo=1¬e=35>, [Consulta: Martes, 19 de Abril de 2016].

de virus, la producción de semillas sintéticas, la transformación de células carentes de pared celular (protoplastos), la fusión de especies diferentes para la generación de híbridos somáticos, entre otros. Siendo la propagación vegetal especialmente beneficiosa para especies de difícil propagación por otros métodos, o en vías de extinción.

Una de las técnicas de propagación vegetativa es la micropropagación, “basada en la capacidad que poseen las células vegetales de dividirse y de regenerar órganos y plantas enteras, cuando son sometidas a condiciones nutritivas y ambientales adecuadas y son estimuladas con determinados reguladores de crecimiento”¹⁵. Para Marín¹⁶ entre las características fundamentales de este método se encuentran:

1. Es una propagación vegetativa masiva, es decir, sin participación de los órganos reproductores de la planta.
2. Es una propagación in vitro porque tiene lugar en frascos de cultivo, con medios establecidos y condiciones ambientales controladas.
3. Se mantienen las condiciones asépticas.

Es necesario comprender que la polémica en torno a las técnicas de cultivo in vitro se relacionan en mayor medida con los cambios genéticos de algunas modalidades de la técnica, que para la investigación no se tendrán en cuenta. Además de reconocer que para el Administrador Ambiental, la aplicación de dichas técnicas van más allá de la biotecnología, debido a su capacidad para visualizar el sistema de manera integral, teniendo la capacidad de entender todos los enfoques relacionados con un tema e integrarlos, con el fin de lograr un desarrollo sustentable.

El termino desarrollo sustentable, se formalizó por primera vez en el documento conocido como Informe Brundtland (1987). Es a partir de este informe cuando se abordó el término inglés sustainable development, definido como “...el desarrollo que satisface las necesidades de la generación presente sin comprometer la capacidad de las generaciones futuras para satisfacer sus propias necesidades”¹⁷; siendo su interpretación tridimensional, ya que contempla la dimensión económica, la social y la ambiental.

La dimensión económica para Artaraz¹⁸ tiene en cuenta el modelo económico de crecimiento, que considera la obtención ilimitada de los recursos físicos (materias

¹⁵ MARÍN, Juan Antonio. La micropropagación y la mejora de especies frutales. Zaragoza, 1997, p. 14.

¹⁶ Ibíd., p. 14-15.

¹⁷ COMISIÓN BRUNDTLAND, Informe de Brundtland, citado por Bermejo, Roberto. Del desarrollo sostenible según Brundtland a la sostenibilidad como biomimesis. p. 16.

¹⁸ ARTARAZ, Miren. Teoría de las tres dimensiones de desarrollo sostenible. País Vasco, 2002.

primas, energía, agua), y por otro lado, su compatibilidad con la conservación del medio ambiente. Entre sus componentes se encuentra la relación gastos-ingresos, el acceso a recursos, la rentabilidad, producción y otros.

En lo que se refiere a la dimensión social, se resalta los procesos que ejerce el ser humano sobre la naturaleza y sobre las demás personas, además incluye lo referente a la equidad, de la cual según Artaraz¹⁹ existen tres tipos. La equidad intergeneracional propuesta en la propia definición de desarrollo sostenible; la equidad intrageneracional que implica el incluir a los grupos hasta ahora más desfavorecidos (por ejemplo mujeres y discapacitados) en la toma de decisiones que afecten a lo ecológico, a lo social y a lo económico; y por último la equidad entre países. Entre sus componentes se encuentra la familia, el manejo de la ley y el poder, la democracia participativa, la calidad de vida y otros.

La tercera dimensión, sin la cual no sería posible el desarrollo de las dos dimensiones anteriores, es la ecológica; ligada al cuidado, preservación y manejo de los recursos naturales, además de incluir el empleo de tecnologías ambientalmente apropiadas. Esto implica para Artaraz¹⁹ el diseño de sistemas productivos con la capacidad de utilizar únicamente recursos y energías renovables.

Descubrir que hay detrás de la aplicación de técnicas de cultivo in vitro para la micropropagación de especies vegetales, implica reconocer su relación con dimensiones económicas, sociales y ecológicas, integradas por una serie de agentes sociales que se ven afectados positiva y negativamente por dichas técnicas. Motivo por el cual es requerido un análisis integral para lograr la identificación de los procesos y elementos que se relacionan con esta biotecnología vegetal.

¹⁹ ARTARAZ, Miren. Teoría de las tres dimensiones de desarrollo sostenible. País Vasco, 2002.

5 METODOLOGÍA

La metodología que se implementó fue de carácter cualitativo, se pretendió emplear técnicas como la entrevista mixta, observación participante, encuesta y recopilación bibliográfica; todo ello para cumplir con los objetivos de la práctica propuestos.

A partir de la entrevista mixta y la encuesta, se recopiló información primaria de los investigadores presentes en el Departamento de Pomología de la EEAD y se logró un primer acercamiento a conceptos y técnicas de cultivo in vitro, a la vez que se sustentó de manera descriptiva los métodos y metodologías empleados por la Organización.

De igual manera al ser una práctica, la observación participante se convirtió en una técnica necesaria para interactuar con el medio y retroalimentar el proyecto con los datos recolectados; y la recopilación bibliográfica permitió profundizar en las bases y cimientos de las técnicas de cultivo in vitro a la vez que complementar la información obtenida por fuentes primarias.

El uso de fichas fue fundamental para la recolección y análisis de la información; y la fotografía como medio visual de apoyo, acompañó los procesos descriptivos y de recopilación de información. De esta manera todas las técnicas e instrumentos facilitaron el proceso de análisis y discusión de técnicas, métodos, metodologías y fases, a la vez que permitió interpretar la información desde el punto de vista del Administrador Ambiental.

A continuación se describe la metodología utilizada para cumplir cada objetivo:

Objetivo 1. Describir fases (Introducción o establecimiento, multiplicación, enraizamiento y aclimatación) y métodos de la propagación vegetativa in vitro.

Debido a que el cultivo in vitro es un tema muy amplio, esta primera fase fue de carácter exploratorio y favoreció un primer acercamiento al desarrollo de la propagación vegetativa, para lo cual se utilizó como técnica e instrumento, la recopilación bibliográfica y la ficha de recolección, respectivamente.


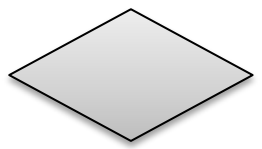


Establecer cultivos viables y axénicos, mantener y aumentar la cantidad de brotes, inducir la formación de raíces y pasar el cultivo desde el frasco con medio nutritivo y humedad del 100% a maceta con sustrato, son las fases del desarrollo del cultivo in vitro que se profundizaron y describieron, mediante una aproximación bibliográfica que se registró.

El reconocimiento de los aspectos mencionados con anterioridad, fue la base para la profundización y explicación del tema. Motivo por el cual para la recolección se utilizaron como instrumento dos fichas. La primera recogió la información de cada una de las fases con su respectiva descripción y fuente; la segunda respecto a los

métodos, contiene variables importantes como método, descripción, ventajas y/o desventajas, representación esquemática o figura y fuente.

Al esperarse información amplia acerca de las fases y métodos, se facilitó el proceso de conceptualización y organización de los resultados mediante la elaboración de un mapa conceptual y un flujograma. El mapa conceptual representó y enlazó los conceptos primordiales asociados a los métodos de propagación in vitro, mientras que el flujograma explicó los procesos relacionados a las fases del cultivo in vitro utilizando la simbología de la figura 3.

Figura 3. Cuadro de símbolos para la elaboración del diagrama de flujo.

SÍMBOLO	REPRESENTA
	Operación. Indica las principales fases del proceso.
	Decisión. Muestra un punto dentro del flujo en donde se debe tomar una decisión entre dos alternativas.
	Actividad. Describe acciones, asociadas a cada operación y decisión.
	Conector. Representa una conexión o enlace entre operaciones, decisiones o actividades. Orienta la "lectura" del flujo.

Fuente: propia

Objetivo 2. Explicar los procesos que soportan la investigación en la Estación Experimental de Aula Dei

Este momento de la investigación se convirtió en el más importante en lo referente a la práctica, ya que representó el paso de lo teórico a lo práctico. En esta parte se propició el vínculo con el entorno investigativo, enriqueciéndose así el proceso de formación personal y laboral de la estudiante.

Se reconocieron todos los procesos efectuados en la Estación Experimental de Aula Dei en lo referente a la propagación vegetativa in vitro de especies frutales. La técnica que mejor se acopló al alcance de este objetivo fue de tipo observacional, específicamente observación participante, puesto que fue útil para conocer en primera persona el funcionamiento de las técnicas de cultivo. Se complementó la observación con la entrevista libre, la cual permitió mediante un diálogo con algunos integrantes del grupo de investigación de la EEAD, conocer los procesos desarrollados por el Departamento. Los instrumentos que se emplearon para la recopilación de información fueron las notas de campo y fotografías.

Sumado a lo anterior se elaboró un diagrama de procesos, en el cual se visualiza cada uno de los procedimientos realizados en el Departamento de Pomología de la EEAD y con el fin de profundizar en cada uno de los procedimientos que implican las fases y el desarrollo del cultivo in vitro, se complementaron los datos recolectados con datos primarios e información bibliográfica, que fue presentada de manera conjunta e integrada a la descripción del proceso.

Objetivo 3. Identificar la relación Sociedad- Economía- Naturaleza en el uso de Cultivo in vitro como biotecnología vegetal

Con el fin de cumplir con el objetivo de la práctica empresarial correspondiente a la aplicación de los conocimientos adquiridos durante el proceso de formación universitario, el tercer objetivo procuró contemplar la interdisciplina y visión sistémica promulgada por la Facultad de Ciencias Ambientales de la Universidad Tecnológica de Pereira.

El por qué y para qué de la utilización de cultivo in vitro requirió de una interpretación que contempló las dimensiones económicas, sociales y ecológicas del desarrollo sustentable, y parte de la premisa de que hay unas razones que conllevan a procesos de biotecnología y que a su vez su uso trae consigo impactos, negativos o positivos, al sistema.

La identificación de las relaciones entre variables requirió un estudio con base a información secundaria y primaria. La primera se obtuvo mediante la recopilación bibliográfica en torno a las dimensiones económicas, sociales y ecológicas, para cuya recolección se empleó una ficha, que permitió identificar agentes relacionados a cada dimensión; la segunda se adquirió a través de la técnica de la encuesta, para lo cual se utilizó como instrumento el cuestionario con preguntas cerradas (Anexo A) elaboradas a partir de la información secundaria previamente recolectada. Debido a que se careció de una población para aplicar una fórmula de muestreo, se determinó una muestra de 30 individuos a los cuales se les realizó la encuesta, entre estos se encuentran nueve que tienen una vinculación a la Universidad Tecnológica de Pereira, cinco de los encuestados fueron

investigadores de la Estación Experimental Aula Dei y los 16 restantes fueron seleccionados aleatoriamente (Anexo B). Todos los encuestados tienen conocimiento acerca del cultivo in vitro y entre ellos se encuentran investigadores, docentes y viveristas.

Con los datos obtenidos se procedió a la realización de un diagrama, conocido como modelo causal, el cual permitió visualizar las relaciones entre variables (Sociales, económicas y naturales), para así demostrar la necesidad de concebir las técnicas de cultivo in vitro no simplemente como una biotecnología vegetal sino como una herramienta que puede afectar positiva y negativamente a todos los componentes del sistema.

En el diagrama, haciendo seguimiento a lo propuesto por García²⁰, las diferentes relaciones se representaron por flechas acompañadas de un signo (+ o -) que indica el tipo de influencia ejercido por una variable sobre la otra. Un signo "+" quiere decir que un cambio en la variable origen de la flecha produce un cambio del mismo sentido en la variable destino. El signo "-" simboliza que el efecto producido fue en sentido contrario. Así cuando un incremento de A, produce un incremento de B, o bien una disminución de A provoca una disminución de B, la relación es positiva. Y cuando un incremento de A, produce una disminución de B, o bien una disminución de A provoca un aumento de B, la relación es negativa. Una cadena cerrada de relaciones causales recibe el nombre de bucle, retroalimentación o feedback.

El análisis de los bucles se realizó de acuerdo a las afirmaciones de Martínez²¹, quien dice que los bucles de realimentación son de dos tipos: Refuerzo y compensación. El primer tipo es el de realimentación de refuerzo cuando los cambios registrados en todo el sistema se realimentan para amplificar el cambio original, es decir que el cambio recorre todo el sistema produciendo más cambios en la misma dirección. Por otro lado el bucle de realimentación de compensación se da cuando los cambios en una parte del sistema generan cambios en el resto del sistema, que reducen, limitan o contrarrestan el cambio inicial; son los bucles que presentan resistencia al cambio y mantienen estable el sistema; sin ellos la realimentación de refuerzo acabaría por romperlo.

²⁰ GARCÍA, Juan Martín. Teoría y ejercicios prácticos de Dinámica de Sistemas. Barcelona. 2014

²¹ MARTÍNEZ, Teresa. Introducción al pensamiento sistémico. Universidad del Valle de México. 2013. http://www.licenciatura.unt.edu.ar/content/Introduccion_al_Pensamiento_Sistemico.pdf. [Consulta: Martes, 17 de Mayo de 2016].

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Métodos y fases de la propagación vegetativa in vitro²²

La propagación vegetativa in vitro se lleva a cabo a través de diferentes medios, cada uno de los cuales puede variar de acuerdo al objetivo a alcanzar por el o los investigadores, en base a su trabajo.

En la figura 4 se muestra como para llevar a cabo la propagación vegetativa se tienen en cuenta seis métodos: 1) Segmentos nodales, 2) yemas axilares, 3) explantos, 4) inducción de callos, cultivo de callos, regeneración de órganos y embriones, 5) regeneración a partir de células aisladas y 6) semillas sintéticas. Cada uno de los cuales presenta ventajas y desventajas, tomadas en consideración para su selección.

El aislamiento puede ser de yemas, ápices, células, tejidos e incluso órganos de la planta. De acuerdo a la bibliografía analizada los métodos de regeneración de explantos y semillas sintéticas no poseen ventajas relevantes, sin embargo es necesario profundizar sobre cada uno de estos métodos y considerar su selección de acuerdo a otros factores, en base al fin de la investigación.

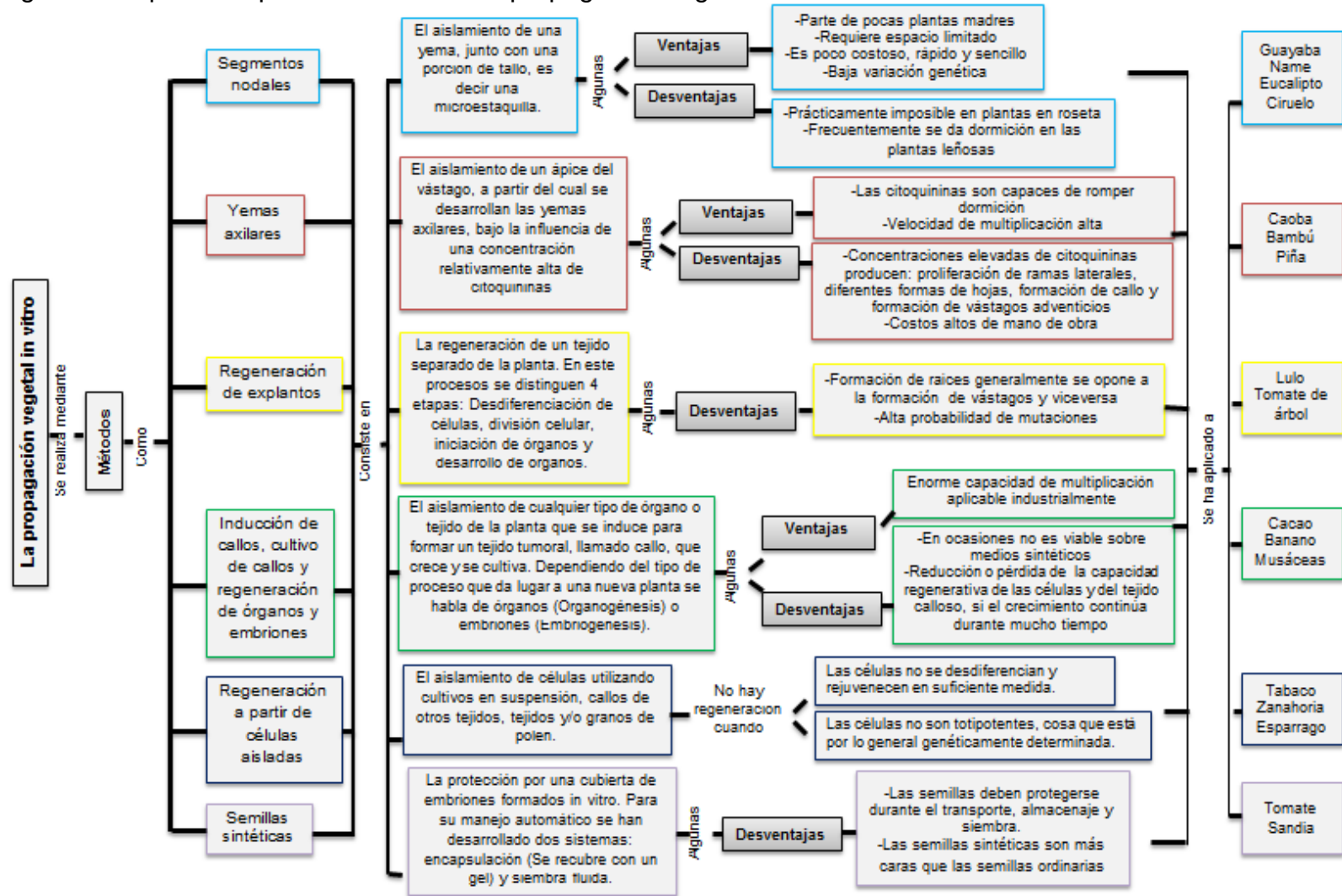
Las ventajas varían de acuerdo a cada método, e incluso lo que representa un aspecto positivo para un método, puede ser una desventaja para otros; esta variación se observa en lo referente a costos, puesto que la propagación mediante segmentos nodales es poco costosa, mientras que el método de yemas axilares tiene como desventaja los costos elevados.

Respecto a la regeneración a partir de células aisladas no se encontraron ventajas ni desventajas relevantes, no obstante es necesario tener en cuenta que todos los métodos de propagación vegetativa in vitro permiten el control de todos los elementos en el sistema, desde el agua, hasta la intensidad de la luz, e incluso las cantidades de nutrientes y hormonas.

Las investigaciones que se han realizado comprenden la propagación vegetativa con muchas y diversas plantas, como el bambú, el tomate y la piña. En la EEAD se han realizado trabajos con frutales de hueso como el ciruelo y melocotón.

²² Síntesis realizada con base al Anexo C y D.

Figura 4. Mapa conceptual de métodos de propagación vegetal in vitro



Fuente: propia

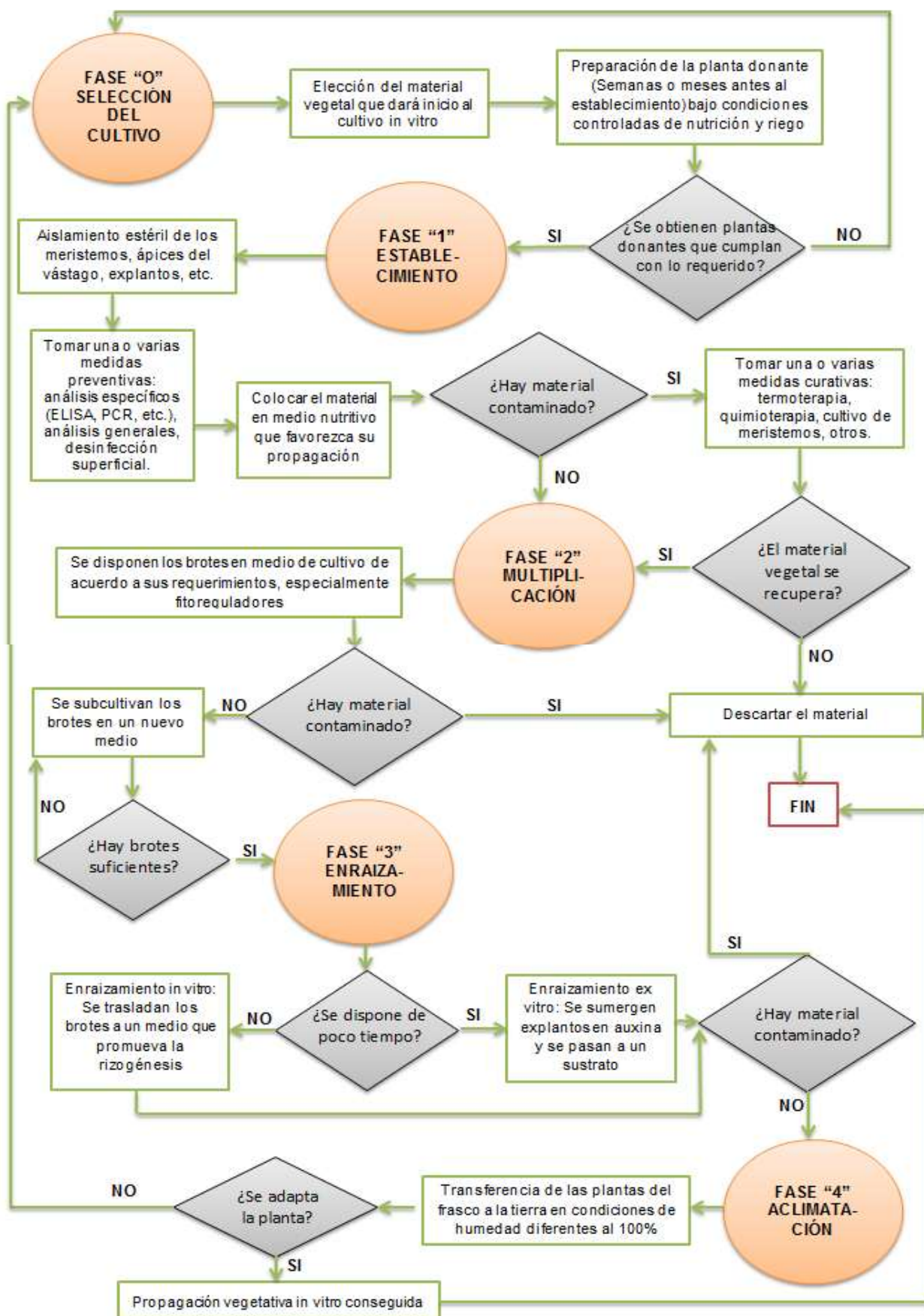
Las fases de la propagación vegetativa in vitro, por otro lado, se componen de cinco pasos (Figura 5). Cada uno de los cuales se aplica a cada uno de los métodos mencionados con anterioridad, aunque pueden presentarse variaciones asociadas a los actores encargados de realizar la propagación. Los pasos que generalmente se suelen seguir son: Selección del cultivo o fase 0, Establecimiento o fase 1, Multiplicación o fase 2, Enraizamiento o fase 3 y Aclimatación o fase 4.

En la fase 0 se selecciona el cultivo a trabajar y se establece en condiciones controladas; se elige en el campo la planta según el aspecto de las hojas y se pasa a la fase 1 o de establecimiento del cultivo, para ello se toman las muestras de la planta a cultivar, se pasa por un proceso de esterilización o limpieza para colocarlas por último en un medio nutritivo en condiciones de asepsia. En la fase 2 de multiplicación se subcultiva el material las veces necesarias hasta obtener el número de explantos necesarios por los actores, también puede multiplicarse todo el material y trabajarse con él o solo seleccionar una parte.

Las dos últimas fases son el enraizamiento (3) y la aclimatación (4). El enraizamiento hace referencia a la transferencia de la parte de la planta a un medio que promueva la rizogénesis; para lo cual se incrementan las auxinas; después de ello se pasa a la fase 4, donde el material enraizado se va acostumbrando a condiciones con una humedad menor al 100% hasta que la planta se adapte a las condiciones del medio natural.

La bibliografía respecto a las diferentes fases es amplia, sin embargo como todo proceso no es constante, por lo cual no siempre se requiere de los mismos elementos sino que puede variar de acuerdo a lo que busquen los investigadores y el propósito de la investigación, especialmente lo referente a la composición de los medios de cultivo.

Figura 5. Flujograma de las fases de la propagación vegetativa in vitro

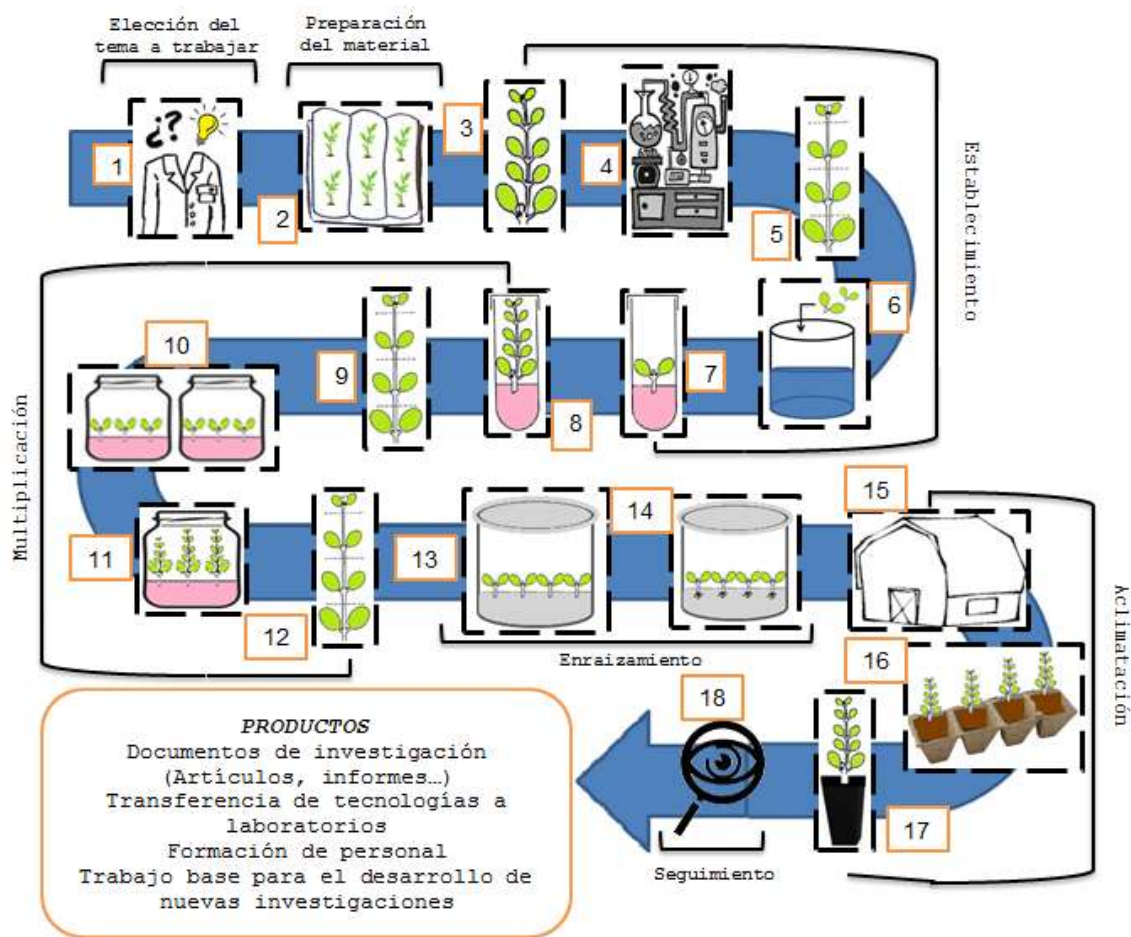


Fuente: Propia

6.2 Proceso de propagación vegetativa in vitro realizado en la EEAD

Los procesos de propagación vegetativa in vitro realizados en la Estación Experimental de Aula Dei, como se observa en la figura 6, se componen de 18 pasos, agrupados en 7 procesos: Elección del tema a trabajar (Paso1), preparación del material (Paso 2), establecimiento (Pasos 3 a 7), multiplicación (Pasos 8 a 12), enraizamiento (Pasos 13 y 14), aclimatación (Pasos 15 a 17) y seguimiento (Paso 18); los cuales permiten la generación de unos productos y sobre los cuales se trabajó durante el transcurso de la práctica.

Figura 6. Procesos de propagación in vitro realizados en la EEAD



Fuente: Propia

Elección del tema a trabajar

El primer paso del proceso de propagación vegetativa in vitro (selección de un tema a trabajar) surge de la inquietud del grupo investigador de la EEAD y del

interés del mismo sobre algún aspecto o proceso en particular. No obstante al formar parte del Departamento de Pomología, su investigación se limita a frutales.

Desde los años 50 el Departamento de Pomología trabaja en patrones, en su selección y mejora, por lo que la micropropagación es una parte. Felipe²³ explica que cada planta está compuesta por dos partes interdependientes, situadas en medios ambientales muy distintos: la parte aérea (tronco, ramas, hojas, flores y frutos) y la parte subterránea (raíces o sistema radicular); siendo el régimen de temperaturas, los sistemas de intercambio de gases, las variaciones de humedad, etc., completamente distintos en la atmosfera y en el suelo. Es por ello que normalmente, el árbol frutal es una planta injertada, constituido por el conjunto variedad/patrón, en las que cada parte: la aérea o variedad y la subterránea o patrón, procede de individuos distintos que pueden pertenecer a una misma especie o a especies distintas y se seleccionan buscando por una parte su adaptación al suelo, en el caso del patrón, o a la calidad del fruto en el caso de la variedad.

El injerto no siempre funciona, en algunos casos se presenta incompatibilidad entre patrón y variedad y se ha de buscar otro material para injertar; si funciona bien, se habla de patrones compatibles. Hay patrones tanto para frutales de pepita como para frutales de hueso. En la actualidad se injertan otras muchas plantas, como por ejemplo el tomate y algunas otras hortalizas que crecen en invernaderos, buscando tanto resistencias a enfermedades de suelo como nuevas variedades al gusto del consumidor.

En el Departamento de Pomología, en el grupo de cultivo in vitro, se investiga la propagación de patrones de hueso, buscando el patrón que se adapte al tipo de suelos de la zona, arcillosos y pesados, a la escasez de agua y a la resistencia a parásitos de suelo como los Nematodos. El primer paso es determinar que patrón (melocotonero, ciruelo, híbrido, etc.) se va a propagar y con qué fin, e investigarle para conocer su desarrollo y requerimientos.

Preparación del material

Determinado qué se va a trabajar, se establece la planta en campo, conservándose en parcelas para mantener su calidad, son las llamadas plantas madre, que se utilizaran en los estudios posteriores. En la EEAD se suelen seleccionar plantas que ya han sido cultivadas previamente como plantas madre,

²³ FELIPE, Antonio. Patrones para frutales de pepita y hueso. Ediciones Técnicas Europeas, s.a. Barcelona, junio de 1989.

ya que suelen ser podadas cuidadosamente, favoreciendo el surgimiento de rebrotes jóvenes y vigorosos, sin embargo en los casos en que la planta no ha sido cultivada como planta madre el proceso es el mismo.

Iniciar la recolección del material requiere determinar el método de propagación vegetal que se va a emplear y los requerimientos del cultivo. En la EEAD se trabaja con el método de segmentos nodales, ya que conserva las características de la variedad; respecto a los requerimientos de las diferentes variedades de frutales, varía de acuerdo a la necesidad de la investigación.

Establecimiento del cultivo

En este proceso se realiza la recolección del material previamente seleccionado, el cual varía de acuerdo al estado de la planta, siendo ideal realizarlo un año después de plantado en las parcelas del Centro de investigación y cuando empieza a rebrotar en primavera.

El primer paso es preparar el medio de cultivo idóneo a la planta que se va a introducir in vitro. En el caso de plantas leñosas, como es el caso de los patrones frutales, el medio de Murashige y Skoog- MS (1962), es el más utilizado. Contiene macronutrientes, micronutrientes, aminoácidos, vitaminas y reguladores de crecimiento, especialmente auxinas y citoquininas, cuya elección y cantidad depende del tipo de explanto y de la especie vegetal. Muchos de los componentes del medio MS se utilizan a partir de soluciones stock, preparadas previamente para evitar tener que pesar cantidades muy pequeñas, y numeradas para facilitar el proceso de preparación del medio. Estas soluciones se conservan en frascos de vidrio y son utilizadas en cantidades determinadas para la elaboración del medio (Anexo E).

Con el medio preparado (Anexo F), se prepara el material vegetal utilizando como base varetas o estaquillas (Figura 7), a las cuales en el laboratorio se le cortan las hojas (Con equipos previamente esterilizados); se lavan, se cortan los trozos y se desinfectan para luego instalarlas individualmente en condiciones de asepsia en tubos de ensayo con medio de cultivo (Anexo G), como se observa en la figura 8.

Figura 7. Melocotonero GF 305 cortado de la planta madre



Fuente: Propia

Figura 8. Melocotonero GF 305 en medio nutritivo



Fuente: Propia

Establecido el cultivo se hace revisión periódica para conocer el desarrollo de las plantas y determinar las pérdidas y sus causas. Este tipo de análisis permite al investigador conocer las capacidades del material y su potencial. Para este caso se establecieron 48 yemas de Melocotonero GF305 (Anexo H), en tubos individuales con MS, para evitar contaminación múltiple; de las yemas establecidas el 6,25% (3 yemas) se vieron contaminadas, dos por hongo, distinguido por su color blanco (Figura 9), y una por razones endógenas, contaminación caracterizada por la presencia de una aureola alrededor del tallo (Figura 10).

Figura 9. Melocotonero GF 305 contaminado por hongo



Fuente: Propia

Figura 10. Melocotonero GF 305, contaminación endógena.



Fuente: Propia

Multiplicación

El inicio de la fase de multiplicación depende de cada individuo, por lo cual puede darse días, semanas o meses después del establecimiento del cultivo; cuando los brotes empiezan a crecer y tiene al menos dos hojas desplegadas (Figura 11), se subcultivan cortando la yema del trozo de estaquilla y poniéndola en medio MS, en condiciones de esterilidad, en la cabina de flujo laminar (Anexo I). Al final del proceso se selecciona solo una yema, la que da mejores resultados, de manera que los experimentos posteriores se lleven a cabo con material idéntico; este proceso se realiza cada 4 semanas hasta obtener el número de plantas deseado, de esta forma los pasos 9, 10, 11 y 12 se repiten (Anexo J). Una excepción a este manejo de material se lleva a cabo en los viveros comerciales, donde se mantienen todas las yemas y se multiplican todas, porque la finalidad es vender el mayor número de plantas.

Figura 11. Melocotonero GF 305 a las 4 semanas de instalación



Fuente: Propia

El material se mantiene en cámaras de cultivo (Figura 12) en condiciones constantes de temperatura (23°C) y con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 de oscuridad y se revisan periódicamente para controlar la aparición de contaminaciones y el crecimiento de las yemas.

La estadística juega un papel fundamental, motivo por el cual se tiene en cuenta la tasa de multiplicación, partiendo del número de brotes generado después de cada subcultivo. En este caso se multiplicó un ciruelo

Figura 12. Cámara de cultivo



Fuente: Propia

Mirobolan (Figura 12), patrón clonal perteneciente al grupo “de crecimiento rápido”, con una tasa de multiplicación entre 3 y 5.

La multiplicación se inició con 4 yemas, cada una en un frasco, y se subcultivaron 4 veces, obteniéndose los siguientes resultados en cada uno de los 4 subcultivos.

Tabla 1 Tasa de multiplicación del ciruelo Mirobolan

Yema	No. Inicial de brotes	No. Final de brotes-Subcultivo 1	No. Final de brotes-Subcultivo 2	No. Final de brotes-Subcultivo 3	No. Final de brotes-Subcultivo 4	Tasa de multiplicación
1	5	5	9	14	Se desechó	3,3
2	4	4	3	Se desechó	Se desechó	
3	5	9	16	31	98	
4	5	7	9	Se desechó	Se desechó	
TOTAL	19	25	37	44	98	

Fuente: Propia

En la Tabla 1 se observa que el total de brotes aumenta con cada subcultivo, no obstante en el subcultivo 3 se desecharon las yemas 2 y 4 debido a que no crecieron y la yema 1 presentó contaminación endógena. El subcultivo 4 sólo se continuó con el material del frasco 3, debido a que fue el que presentó mejor desarrollo y además la multiplicación se prosigue solo con una yema para que el material obtenido sea lo más homogéneo posible. La tasa de multiplicación del material de la yema 3 es de 3,3, valor que se encuentra en el rango de multiplicación del Ciruelo Mirobolan, lo que implica que la multiplicación del material se dio de manera ideal y es posible continuar con la siguiente fase, que es la de enraizamiento.

Enraizamiento

El proceso de enraizamiento requiere tomar los brotes y subcultivarlos nuevamente en un medio de cultivo de enraizamiento o ME (Anexo E). Este medio está compuesto por los mismos macronutrientes, micronutrientes, vitaminas y aminoácidos del MS, pero en cantidades diferentes, carece de citoquininas y se incrementan las auxinas. En la EEAD se utilizan frascos plásticos con capacidad para 10 brotes, de tamaño superior a los de vidrio utilizados para multiplicar (Figura 13).

Figura 13. Frasco con brotes de Ciruelo recién enraizados



Fuente: Propia

Figura 14. Frasco con brotes de Ciruelo 4 semanas después de enraizados



Fuente: Propia

Subcultivados en el ME, el proceso de enraizamiento empieza inmediatamente, sin embargo es visible aproximadamente entre una semana y 10 días después. Entre dos semanas y un mes la raíz adquiere forma y cuando alcanza medidas entre 1 a 2 cm (Figura 14), se procede a realizar la aclimatación, que es el paso a ex vitro.

En la práctica se enraizaron 23 brotes de ciruelo. A las 4 semanas se observan que de los 23 brotes enraizados, 20 presentan al menos 1 raíz (87%) y se espera que próximamente se puedan pasar a tierra. En la tabla 2 se observa el número de raíces mínimas y máximas que presentaron los brotes (0 y 7), y la cantidad de brotes que presentan dicho número de raíces.

Tabla 2 Raíces por brote

Nº. de raíces por brote	Nº de brotes
0	3
1	1
2	0
3	2
4	6
5	5
6	4
7	2
TOTAL	23

Fuente: Propia

Los frascos, tubos y demás recipientes utilizados durante los procesos de establecimiento, multiplicación y enraizamiento deben limpiarse y esterilizarse para su posterior uso con material vegetal (Anexo K).

Aclimatación

Las plantas que enraizaron in vitro se traspasan a unas macetas pequeñas biodegradables llamadas “Jiffy pots”(Figura 15), las cuales pueden ser plantadas directamente al suelo o a una maceta de mayor tamaño, éstas se colocan con tierra que contiene sustrato Pindstrup (Figura 16), una mezcla de turba producida por Pindstrup Mosebrug SAE.

Figura 15. “Jiffy pots” con sustrato Pindstrup



Fuente: Propia

Figura 16. Ciruelo en “Jiffy pots” con sustrato



Fuente: Propia

Esta etapa es importante porque requiere especialmente un control sobre la humedad relativa. En Aula Dei se ha trabajado con un “Túnel” clásico, que consiste en tener en un invernadero las plantas cerradas con un plástico y sobre una superficie que mantenga la humedad, como lo es una moqueta siempre húmeda; el suelo se suele mojar para mantener una humedad de casi 100% y las plantas se sacan diariamente de dicho túnel durante periodos cortos de tiempo que se van aumentando progresivamente (Figura 17), de manera que en un mes aproximadamente, estén aclimatadas a la temperatura y humedad del invernadero. Uno de los principales problemas con este sistema es que requiere de una persona responsable de sacar las plantas diariamente.

Es por lo anterior que recientemente el Departamento de Pomología adquiere un nuevo material para hacer un “Túnel automático” (Figura 18) conocido como Fog system (Sistema de niebla), “sistema de humidificación por niebla artificial que normalmente mantiene una atmósfera con la humedad relativa muy cercana a la

saturación (punto de rocío), es utilizado principalmente como método de enfriamiento en épocas calurosas, incluso en exteriores más independiente²⁴, consistente en un sistema de ventilación y riego, que se activa automáticamente, lo que hace que no dependa de una persona para realizar la aclimatación. Sin embargo, por el momento está en fase de experimentación y los resultados se esperan para la primavera. Las primeras pruebas no han sido buenas, se han cambiado las boquillas para que la gota sea de menos tamaño y hay que tener en cuenta que la estación (otoño) no favorece el crecimiento.

Figura 17. Plantas en aclimatación



Fuente: Propia

Figura 18. Túnel de aclimatación mecánico



Fuente: Propia

Seguimiento

Debido a que el Departamento de Pomología no es un laboratorio comercial, sino que se dedican a hacer investigación, después de la fase de aclimatación se ponen en macetas más grandes de plástico, que continúan en el invernadero o bien se llevan a campo. En algunos casos la planta se da a viveristas con los que se está colaborando para que controlen el comportamiento de la planta en sus campos.

El centro de investigación con su trabajo sobre cultivo in vitro de especies frutales genera una serie de productos que comprende: artículos de investigación, transferencia de tecnologías a laboratorios, formación de personal y lo más importante es que con su trabajo son una base para el desarrollo de nuevas

²⁴ PAYENAS, Antoni. (2016). Sistemas de enraizamiento avanzados: Mist-System y Fog-System. <http://www.bonsaimenorca.com/articulos/articulos-tecnicos/mist-system-y-fog-system/> .[Consulta: Viernes 6 de noviembre de 2015]

investigaciones acerca de las técnicas de cultivo in vitro. Entre sus investigaciones se destacan:

- Micropropagación e injerto in vitro de pistacho
- Recuperación in vitro de clones envejecidos y amenazados del ciruelo
- Germinación in vitro de semillas inmaduras de Microbolan (*Prunus cerasifera Ehrh.*)
- Método para la detección precoz de patrones frutales tolerantes al estrés salino
- Aislamientos de protoplastos del patrón híbrido almendro x melocotonero 'adafuel' a partir de células del mesófilo en la hoja
- Banco de germoplasma de ciruelo europeo (Género *Prunus*, Sección *Euprunus*)

6.3 Relación Sociedad-Economía- Naturaleza en la realización de técnicas de cultivo in vitro²⁵

La búsqueda del desarrollo sustentable requiere el reconocimiento de los enfoques económicos, sociales y ecológicos o naturales, que impulsan la aplicación de técnicas de cultivo in vitro para la micropropagación de especies vegetales, considerada una biotecnología positiva, motivada principalmente por procesos económicos, sociales y académicos. De igual manera los mismos problemas que motivan esta biotecnología vegetal son a los que se les da solución con su aplicación.

Todo sistema está conformado por una serie de elementos, cada uno de los cuales influencia las dinámicas y procesos económicos, sociales y naturales en relación con la micropropagación vegetal in vitro, entre estos se incluyen la sociedad, los agricultores, inversionistas, investigadores y viveristas, además de los componentes bióticos suelo, agua, aire y finalmente la biodiversidad. Cada uno de los cuales se ve afectado positiva y negativamente con la aplicación de la técnica de cultivo in vitro.

Los componentes beneficiados primordialmente por la implementación de prácticas de cultivo in vitro son los pequeños y grandes agricultores, investigadores, viveristas, compañías y la academia. Entre los que más se ven afectados se encuentra la biodiversidad, la sociedad y los pequeños agricultores. Sin embargo, a pesar de sus afectaciones negativas, se considera que la aplicación de esta biotecnología trae en su mayoría impactos positivos.

En la figura 19 se identifican las relaciones que hay entre las dimensiones económicas, sociales y ecológicas, con sus respectivos componentes. Además se evidencia una clara relación política, transversal al desarrollo de cada dimensión y que motiva la aplicación de la biotecnología vegetal en los diferentes niveles de la sociedad.

²⁵ Síntesis realizada con base al Anexo L y M.

El diagrama de flujo ilustra las interacciones entre diversos actores y factores en el sector de la agricultura y la biotecnología vegetal. Las relaciones se representan mediante flechas con signos positivos (+) o negativos (-).

- Uso de agroquímicos** tiene una relación positiva (+) con **Susceptibilidad a plagas y cambio climático** y una relación negativa (-) con **Impactos negativos sobre la biodiversidad**.
- Impactos negativos sobre la biodiversidad** tiene una relación negativa (-) con **Calidad de vida**.
- Calidad de vida** tiene una relación positiva (+) con **Beneficio económico**.
- Beneficio económico** tiene una relación negativa (-) con **Precios de productos**.
- Precios de productos** tiene una relación negativa (-) con **Oferta de alimentos**.
- Oferta de alimentos** tiene una relación positiva (+) con **Dependencia a la propagación vegetal in vitro**.
- Dependencia a la propagación vegetal in vitro** tiene una relación positiva (+) con **Demanda de material vegetal homogéneo**.
- Demanda de material vegetal homogéneo** tiene una relación positiva (+) con **Cultivos con características fenotípicas homogéneas**.
- Cultivos con características fenotípicas homogéneas** tiene una relación positiva (+) con **Productividad de agricultores** y una relación positiva (+) con **Monocultivos**.
- Productividad de agricultores** tiene una relación positiva (+) con **Beneficio económico**.
- Monocultivos** tiene una relación negativa (-) con **Control de dispersión** y una relación positiva (+) con **Susceptibilidad a plagas y cambio climático**.
- Control de dispersión** tiene una relación negativa (-) con **Monocultivos**.
- Susceptibilidad a plagas y cambio climático** tiene una relación positiva (+) con **Accesibilidad**.
- Accesibilidad** tiene una relación positiva (+) con **Oferta de material vegetal micropropagado**.
- Oferta de material vegetal micropropagado** tiene una relación positiva (+) con **Implementación de micropropagación vegetal in vitro**.
- Implementación de micropropagación vegetal in vitro** tiene una relación positiva (+) con **Conservación de especies vegetales ex situ**.
- Conservación de especies vegetales ex situ** tiene una relación positiva (+) con **Políticas enfocadas en biotecnología vegetal**.
- Políticas enfocadas en biotecnología vegetal** tiene una relación positiva (+) con **Investigación y desarrollo académico en biotecnología vegetal**.
- Investigación y desarrollo académico en biotecnología vegetal** tiene una relación positiva (+) con **Capacidad institucional**.
- Capacidad institucional** tiene una relación positiva (+) con **Inversión monetaria pública y privada**.
- Inversión monetaria pública y privada** tiene una relación positiva (+) con **Empresas propagadoras (Viveros)**.
- Empresas propagadoras (Viveros)** tiene una relación positiva (+) con **Oferta de material vegetal micropropagado**.

Fuente: Propia

Las políticas se convierten a nivel general en una de las principales motivaciones para la implementación de biotecnología vegetal para la micropropagación *in vitro*. En Colombia la política para el desarrollo comercial de la biotecnología partir del uso sostenible de la biodiversidad busca crear las condiciones económicas, técnicas, institucionales y legales para atraer recursos públicos y privados para el desarrollo de empresas; es así como mediante el uso de estrategias se busca mejorar la capacidad institucional en lo referente a la investigación e innovación en universidades, centros de investigación y empresas relacionadas con este tipo de biotecnología.

El Gobierno aportará recursos para la creación de fondos de capital en el marco de la Política Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (CONPES 3582) y del Plan Nacional de Desarrollo 2010-2014, con el desarrollo de líneas de crédito para innovación tecnológica. Igualmente en la Unión Europea abordan el tema mediante la Política Agrícola Común (PAC) y la Política de Desarrollo Rural de la Unión Europea, a través de las cuales se busca invertir en ciencia y tecnología para mejorar las prácticas agrícolas, logrando así un aumento en los ingresos de los pequeños agricultores.

Otro de los momentos históricos que conllevó a la toma de medidas en torno a la biotecnología vegetal fue la Convención sobre Diversidad Biológica, generada en el marco de la Conferencia de Naciones Unidas sobre Medio Ambiente en el año 1992. Por la cual a nivel internacional se empezaron a tomar medidas partiendo de las dos estrategias de conservación: *in situ* (Incluye la protección de la especie y su hábitat) y *ex situ* (Preservación de la diversidad genética de cada especie fuera de su hábitat natural). Es así como las herramientas de biotecnología, particularmente el cultivo de células y tejidos *in vitro* tienen un papel fundamental en la conservación de especies, y entre las técnicas de cultivo *in vitro* que pueden ser aplicadas a la conservación de especies amenazadas se encuentra la micropropagación, utilizada para investigación, colecciones vivas y para programas de introducción vegetal.

Lo anterior implica un aumento en la oferta de material vegetal obtenido por micropropagación *in vitro* cuyo precio, de acuerdo a la Ley de la oferta y la demanda, disminuirá, favoreciendo el acceso de los agricultores a este tipo de material. Se ha demostrado que la principal limitante para la implementación de técnicas de cultivo *in vitro* son sus altos costos, asociados con requerimientos como personal capacitado en el tema e instalaciones adecuadas (laboratorios). Estos dos requerimientos hacen que el acceso a esta biotecnología vegetal, se reduzca a unas pocas empresas o viveristas, y que su distribución sea realizada principalmente por los grandes agricultores que tienen el poder adquisitivo para la compra del bien. Algunas estimaciones indican que, si se lograra un 50% de reducción en los costos, la micropropagación masiva podría expandirse 10 veces respecto del volumen actual. Si la reducción de costos alcanzara un 90%, el mercado potencial se tornaría 1.000 veces mayor respecto del actual.

La micropropagación vegetal in vitro implica la obtención de plantas con características fenotípicas homogéneas y deseables en tiempos cortos y reducido espacio, ahorrándose varios años en comparación con los métodos tradicionales, sin embargo es necesario articular este tipo de producción con un control de dispersión de manera tal que se desarrolle una agricultura sustentable.

Los agricultores que pueden acceder a este tipo de material serán más productivos, generando mayor cantidad de productos y beneficios económicos que contribuyen a la calidad de vida, al dar empleo y ofrecer condiciones de trabajo razonables. No obstante si no se realiza un control de dispersión del material vegetal in vitro y la extensión agrícola se limita a una sola especie vegetal (monocultivos), se generará alta vulnerabilidad del sistema al cambio climático y a la invasión de plagas y enfermedades; lo que implicaría un aumento en el uso de agroquímicos, que tienen impactos directos sobre una variedad de organismos como polinizadores, enemigos naturales de plagas, componentes abióticos y vida silvestre en general.

Debido al incremento de la población mundial la producción de alimentos en cantidad y calidad para satisfacer la demanda es un importante reto para este siglo, motivo por el cual la micropropagación vegetal in vitro, puede ser una de las alternativas para vencer este reto si se utiliza de manera adecuada. Igualmente en función de la Ley de la oferta y la demanda, si aumenta la cantidad de productos, se disminuirá el precio de los mismos, lo que beneficiará a la calidad de vida de la sociedad, más aun frente al reto planteado con anterioridad. Sin embargo una consecuencia negativa de la alta productividad se puede reflejar en una dependencia a este tipo de material por parte de agricultores beneficiados, conllevando a un aumento en la demanda del mismo.

Un aspecto importante respecto a la calidad de vida, es que es fruto de la compleja interacción de una serie de factores objetivos (condiciones externas de tipo económico, sociopolítico, cultural, ambiental) y subjetivos que aluden a la percepción del individuo sobre su propia vida y a la satisfacción que alcanza en los distintos ámbitos de la misma. Por tal motivo los impactos negativos sobre la biodiversidad afectan las condiciones ambientales y los aspectos relacionados con la productividad afectan positiva o negativamente las condiciones económicas y sociales, generando implicaciones sobre la calidad de vida de la sociedad en general.

Se evidencia claramente que las tres dimensiones que componen el desarrollo sustentable están estrechamente relacionadas entre sí, respecto a la

implementación de técnicas de cultivo in vitro para la micropropagación vegetal, y que una afectación en uno de los componentes influye todo el sistema. El modelo causal sustenta el por qué y para qué de la biotecnología vegetal y demuestra que al realizar un análisis integral se logra una mayor comprensión en torno al cultivo in vitro.

7 CONCLUSIONES

Los métodos utilizados para llevar a cabo la propagación vegetativa in vitro son seis: 1) Segmentos nodales, 2) yemas axilares, 3) explantos, 4) inducción de callos, cultivo de callos, regeneración de órganos y embriones, 5) regeneración a partir de células aisladas y 6) semillas sintéticas.

Todos los métodos de propagación vegetativa in vitro permiten el control de todos los elementos en el sistema, desde el agua, hasta la intensidad de la luz, e incluso las cantidades de nutrientes y hormonas. Motivo por el cual su selección varía de acuerdo al tipo de investigación y requerimientos de la misma.

La propagación vegetativa in vitro se realiza generalmente en cinco fases: Selección del cultivo o fase 0, Establecimiento o fase 1, Multiplicación o fase 2, Enraizamiento o fase 3 y Aclimatación o fase 4. Cada uno de los cuales se aplica a los diferentes métodos de propagación vegetativa in vitro, aunque puede variar de acuerdo a los actores encargados de realizar la propagación.

Realizar la propagación vegetativa in vitro requiere seleccionar y establecer en condiciones controladas y asépticas el cultivo a trabajar; multiplicar el material mediante subcultivos; transferir la planta a un medio que promueva la rizogénesis y por último pasar el material enraizado a condiciones con una humedad decreciente, hasta que la planta se adapte a las condiciones del medio natural.

En la Estación Experimental de Aula Dei, la propagación vegetativa in vitro está enfocada en especies frutales, específicamente propagación de patrones de hueso, en la búsqueda de patrones que se adapten al tipo de suelos de la zona, arcillosos y pesados, a la escasez de agua y a la resistencia a parásitos de suelo como los Nematodos.

Los procesos realizados en la Estación Experimental de Aula Dei para la propagación in vitro de especies frutales son: Elección del tema a trabajar, preparación del material, establecimiento, multiplicación, enraizamiento, aclimatación y seguimiento.

En torno a la implementación de técnicas de cultivo in vitro, se identifican una serie de componentes, con sus respectivos actores, relacionados entre sí. Dichos componentes bióticos y abióticos, se ven afectados positiva y/o negativamente de acuerdo a las relaciones entre variables. Los actores con mayores beneficios son los pequeños y grandes agricultores, investigadores, viveristas, compañías y la academia. Los más afectados son pequeños agricultores, la sociedad y la biodiversidad.

Las técnicas de cultivo in vitro generan impactos positivos y negativos dependiendo de su uso. Por lo cual componentes del sistema como la accesibilidad y el control en la dispersión del material vegetal micropropagado, son esenciales para generar cambios en el sistema.

Existe relación entre las tres dimensiones del desarrollo sustentable: Económica, social y ecológica. La dimensión económica puede favorecer o no la inversión pública y privada en grandes empresas y agricultores para el desarrollo de biotecnología vegetal, este factor se relaciona directamente con la accesibilidad al uso de técnicas de cultivo in vitro y a su vez con la oferta del material micropropagado y de alimentos. Así, se afecta positiva o negativamente la sociedad, incluyendo agricultores, viveristas, inversionistas, académicos y elementos bióticos y abióticos.

El modelo causal refleja tendencia a refuerzo, es decir, que la dependencia al cultivo in vitro directamente genera la implementación de micropropagación vegetativa. Esto implica que cualquier cambio en la dependencia influirá directamente en su implementación.

La política como variable transversal a las dimensiones económicas, sociales y naturales, motiva y guía la implementación de la biotecnología vegetal en y para todos los niveles de la sociedad, en la búsqueda de la conservación de especies, el fomento al emprendimiento y la equidad y desarrollo de los agricultores.

8 RECOMENDACIONES

Realizar un proceso de propagación vegetal de una sola especie, requiere del tiempo necesario para cumplir con todas las fases del proceso, incluyendo su seguimiento. De esta manera el proceso investigativo será acertado y se podrán generar resultados y conclusiones confiables.

La realización de análisis integrales por parte del Administrador Ambiental, favorece la identificación de variables que pocas veces son consideradas en la aplicación de biotecnología vegetal, por lo cual es necesario sugerir este tipo de interpretaciones a la hora de concebir este tipo de tecnologías para dar solución a problemáticas ambientales.

La asepsia del material vegetal antes de su establecimiento, y de los instrumentos utilizados para dar cumplimiento a las fases de la propagación vegetal, es fundamental para la obtención de material viable comercialmente.

Es necesario que desde la Facultad de Ciencias Ambientales se promueva el desarrollo de prácticas e investigaciones, que promuevan el área de conocimiento relacionado con la biotecnología vegetal.

9 BIBLIOGRAFÍA

[Citado el 17 de Abril de 2016] Disponible en <<http://www.elinnovador.mx/noticia.php?w=562>>

[Citado el 19 de Abril de 2016] Disponible en <<http://porquebiotecnologia.com.ar/index.php?action=cuaderno&opt=5&tipo=1¬e=35>>

[Citado el 17 de Mayo de 2016] Disponible en <[http://www.licenciatura.unt.edu.ar/content/Introduccion al Pensamiento Sistemico.pdf](http://www.licenciatura.unt.edu.ar/content/Introduccion_al_Pensamiento_Sistemico.pdf)>

[Citado el 18 de Abril de 2016] Disponible en < <http://www.forbes.com.mx/10-propuestas-del-gobierno-para-aumentar-la-productividad/>>

[Citado el 18 de Abril de 2016] Disponible en <<http://www.vertigopolitico.com/articulo/29319/Preservacin-de-especies-in-vitro-reto-de-cientficos-mexicanos>>

[Citado el 18 de Abril de 2016] Disponible en <<https://www.cbd.int/doc/measures/abs/post-protocol/msr-abs-co-es.pdf>>

[Citado el 19 de Abril de 2016] Disponible en <<http://archivo.eluniversal.com.mx/ciencia/2015/cultivo-extincion-102225.html>>

[Citado el 19 de Abril de 2016] Disponible en <[http://ec.europa.eu/agriculture/events/2012/rio-side-event/brochure es.pdf](http://ec.europa.eu/agriculture/events/2012/rio-side-event/brochure_es.pdf)>

[Citado el 19 de Abril de 2016] Disponible en <<http://www.biocomerciocolombia.com/index.php/biocomercio-y-mercados-verdes/los-7-principios>>

[Citado el 20 de Abril de 2016] Disponible en <<https://www.cbd.int/iyb/doc/prints/factsheets/iyb-cbd-factsheet-gspc-es.pdf>>

[Citado el 8 de Septiembre de 2015] Disponible en < <http://www.eead.csic.es/web/guest/home/who-we-are.jsessionid=817FD61542EBB0622A8CE0653A53984D>>

[Citado el 10 de Noviembre de 2015] Disponible en < <http://www.bonsaimenorca.com/articulos/articulos-tecnicos/mist-system-y-fog-system/>>

[Citado el 8 de Septiembre de 2015] Disponible en <<http://www.csic.es/presentacion>>

[Citado el 8 de Septiembre de 2015] Disponible en<
<http://ambiental.utp.edu.co/administracion-ambiental/perfil.html> >

AGROBIOTECNOLOGÍA, Micropropagación comercial: La micropropagación masiva en la práctica comercial, 2011

ALTIERI, Miguel. Desiertos verdes: monocultivos y sus impactos sobre la biodiversidad. En: Azúcar roja desiertos verdes. Primera Edición. Berkeley. p. 55-62.

ANDREU, Pilar; ARBELOA, Arancha; CASTILLO, Marta y MARÍN, Juan. Root Acclimatization of the Micropropagated Fruit Tree Rootstock 'Adafuel' (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb x *P. persica* (L.) Batsch). En Revista Acta Horticulturae, 2009, 812: 403-407.

ANDREU, Pilar; ARBELOA, Arancha; GARCÍA, Elena; y MARÍN, Juan. "Técnicas de Cultivo In Vitro" FECYT-CSIC-Delegación de Aragón. (Video formato .mp4), duración 4:52 min, sonido, color, Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=YelaEtXxAs4>

ANDREU, Pilar; ARBELOA, Arancha; LORENTE, Pilar; y MARÍN, Juan. Early Detection of Salt StressTolerance of Prunus Rootstocks by Excised Root Culture. En Revista HortScience, 2011, 46(1): 80-85.

ANDREU, Pilar; ARBELOA, Arancha; MARÍN, Juan y TERREN, Natalia. Aislamiento y cultivo de protoplastos del patrón ciruelo "Mariana 2624" (*Prunus cerasifera* Ehrh x *P. munsoniana* W. Wight & Hedrick). En Revista ITEA, 2008,104: 482- 492.

ARBELOA, Arancha; DAORDEN, María Elena; GARCÍA, Elena; ANDREU, Pilar y MARÍN, Juan. In Vitro Culture of Myrobalan (*Prunus cerasifera* Ehrh.) Embryos. En Revista HortScience, 2009, 44 (6): 1672-1674.

ARBELOA, Arancha; LORENTE, Pilar; GARCÍA, Elena; y MARÍN, Juan. Recuperación in vitro de clones envejecidos y amenazados de ciruelo. En Revista ITEA, 2012, 108 (2): 165-171.

ARTARAZ, Miren. Teoría de las tres dimensiones de desarrollo sostenible. En Revista de Ecología y Medio Ambiente, País Vasco, 2002.

BARRANCO, Luis, et al. Embriogénesis somática en musáceas. Editorial Universitaria, 2007.

BERMEJO, Roberto. Del desarrollo sostenible según Brundtland a la sostenibilidad como biomimesis. Bilbao, Hegoa, 2014, Vol. 1; 59 p.

BLANCO, Héctor, et al. Micropropagación clonal de tres variedades de piña Nativas de la región amazónica mediante cultivo de Yemas axilares y apicales.

En: Revista INTERCIENCIA, Junio de 2011, Vol. 36, no 6.
<http://www.interciencia.org/v36_06/437.pdf> [Consulta: Octubre 8 de 2015]),

CABRERA, Manuel, et al. Multiplicación in vitro de segmentos nodales del clon de ñame Blanco de Guinea (*Dioscorea cayenensis* - *D. rotundata*) en sistemas de cultivo semiautomatizado. En: Revista colombiana de biotecnología, Julio/Diciembre de 2012, Vol. 10, no 2.
<http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-34752008000200011&script=sci_arttext&tlng=pt> [Consulta: Octubre 5 de 2015]

CALVA, Graciano y PÉREZ, Josefina, Cultivo de células y tejidos vegetales: fuente de alimentos para el futuro. En Revista Digital Universitaria, 10 de Noviembre de 2005 Vol. 6, no. 11, p 1-16

CANO, Miriam. Aplicación de la micropropagación y criopreservación ex situ de especies vegetales de interés. Memoria presentada para aspirar al Grado de Doctora. Alicante: Universidad de Alicante. 2013. 192 p.)

CASTILLO, Alicia. Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo.
<<http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf>> [Consulta: Septiembre 29 de 2015]

CASTRO, Dagoberto y SANCHÉZ, Gustavo. Propagación clonal in vitro de *Eucalyptus pellita* F.Muell a partir de árboles plus. En: Revista Temas agrarios, Enero/Julio de 2010, Vol. 15, no 1.
<[http://revistas.unicordoba.edu.co/rta/documentos/15-1/RTA%20ON%20LINE/ARTICULOS%20RTA%2015%20\(1\)%20PDF/3.%20PROPAGACION%20EUCALYPTUS.pdf](http://revistas.unicordoba.edu.co/rta/documentos/15-1/RTA%20ON%20LINE/ARTICULOS%20RTA%2015%20(1)%20PDF/3.%20PROPAGACION%20EUCALYPTUS.pdf)> [Consulta: Octubre 8 de 2015]

CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA Y GENÓMICA DE PLANTAS. Itinerario curricular: Biotecnología de plantas, 15 diapositivas, color, en formato pdf. Disponible en
<http://www.cbgp.upm.es/archivos/noticias/Itinerario_Biotecnologia_Plantas_RED.pdf>

CRUZ BATISTA, Yalenys. Las investigaciones sociales. Rasgos esenciales. En: Contribuciones a las Ciencias Sociales, Mayo 2012. Disponible en
<www.eumed.net/rev/cccss/20/>

ECURED. Propagación in vitro por segmentos nodales. 2015.
<http://www.ecured.cu/index.php/Propagaci%C3%B3n_in_vitro_por_segmentos_nodales> [Consulta: Octubre 05 de 2015]

FELIPE, Antonio. Patrones para frutales de pepita y hueso. Ediciones Técnicas Europeas, s.a. Barcelona, junio de 1989.

GARCÍA, Elena; IMBRODA, Isabel; LORENTE, Pilar; MARÍN, Juan; PADILLA, Isabel; BARCELÓ, Araceli; y ANDREU, Pilar. Micropropagation and in vitro grafting techniques to assist the selection of a pistachio rootstock from a population of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) collected in the SE of Spain. En Revista Acta Horticulturae, 2012, 961: 245-252.

GARCÍA, Elena; LORENTE, Pilar; MARÍN, Juan; ANDREU, Pilar; y ARBELOA, Arancha. Micropropagación e injerto in vitro de pistacho. En Revista ITEA, 2010, 106(4): 294-302.

GARCÍA, Elena; LORENTE, Pilar; MARÍN, Juan; ANDREU, Pilar; y ARBELOA, Arancha. Factores que afectan a la necrosis apical de brotes de *Pistacia vera* cultivados in vitro. En Revista ITEA, 2011, 107 (4): 315-323.

GARCÍA, Juan Martín. Teoría y ejercicios prácticos de Dinámica de Sistemas. Barcelona. Tercera Edición, 2014

GARCÍA, Yudith, et al. Establecimiento in vitro de yemas axilares de *Bambusa vulgaris* var *Vittata*. En: Revista Biotecnología Vegetal, julio/septiembre de 2007, Vol. 7, no 3. p. 155-159. <<http://132.248.9.34/hevila/Biotecnologiavegetal/2007/vol7/no3/5.pdf>> [Consulta: Octubre 9 de 2015]

INSTITUTO GEOGRÁFICO NACIONAL. Sistema de información geográfica nacional de España. Disponible en< <http://signa.ign.es/signa/>>.

LEE-ESPINOSA, H.E, et al. Encapsulación de embriones somáticos de *Laelia anceps* ssp. *dawsonii* para la producción de semilla sintética. En: Revista Chapingo: serie horticultura, Enero de 2009, vol. 15. <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2009000400006> [Consulta: Octubre 14 de 2015].

LÓPEZ, Carlos y PERÁN, Rosa. Embriogénesis somática. En: Revista Encuentros en la biología. Abril de 1997, no 39. <<http://www.encuentros.uma.es/encuentros39/embriogenesis.html>> [Consulta: Octubre 8 de 2015]

MARÍN, Juan Antonio, La micropropagación y la mejora de especies frutales, 1997, Academia de ciencias exactas, físicas, químicas y naturales de Zaragoza.

MARÍN, Juan; ANDREU, Pilar; CARRASCO, Ana; ARBELOA, Arancha. Prolina en tejidos y exudados de raíz como respuesta al estrés salino de cultivos de raíces aisladas de patrones frutales del género *Prunus*. En Revista ITEA, 2009, 105 (4): 282- 290

MARÍN, Juan; BOUDABOUS, M; LORENTE, Pilar; GARCÍA, Elena; ANDREU, Pilar; y ARBELOA, Arancha. Saneamiento in vitro de “Douce de Djerba”, una variedad de manzano micropropagada. En Revista ITEA, 2010, 106(4): 303-307.

MARÍN, Juan; GARCÍA, Elena; LORENTE, Pilar; ANDREU, Pilar; y ARBELOA, Arancha. A novel approach for propagation of recalcitrant pistachio cultivars that sidesteps rooting by ex vitro grafting of tissue cultured shoot tips. En Revista Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2015, 124: 191-200.

MEDINA, Miguel, et al. Regeneración in vitro de plantas a partir de explantes foliares del lulo chocoano, *Solanum sessiliflorum* Dunal vía organogénesis. En: Revista Institucional Universidad Tecnológica del Chocó: Investigación, Biodiversidad y Desarrollo, 2008, Vol. 27, no 1. p. 92-95) <<file:///C:/Users/CINDY/Downloads/Dialnet-RegeneracionInVitroDePlantasAPartirDeExplantesFoli-2705043.pdf>>

MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE, DEPARTAMENTO NACIONAL DE PLANEACIÓN, INSTITUTO "ALEXANDER VON HUMBOLDT", Política nacional de biodiversidad, 1995, Republica de Colombia.

NAVARRO, L. & JUÁREZ, J. Aplicaciones de la biotecnología en los cítricos y otros cultivos. Valencia, Instituto Valenciano de investigaciones agrarias.

NEJOY, Christian. Regeneración y transformación de plantas. 2012. <<http://fisiolvegetal.blogspot.com.co/2012/12/regeneracion-y-transformacion-de-plantas.html>> [Consulta: Abril 19 de 2016]

OCAMPO, Fabiola y Núñez, Víctor. Propagación in vitro de *Psidium guajaba* mediante organogénesis directa a partir de segmentos nodales. En: Revista Corpoica-Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 2007, 8 (1). p. 22-27. <<http://corpomail.corpoica.org.co/BACFILES/BACDIGITAL/49110/49114.pdf>> [Consulta: Octubre 5 de 2015]

OLMOS, Sofía, et al. Métodos de propagación y conservación de germoplasma. En: Biotecnología y mejoramiento vegetal II. Segunda Edición. Argentina. p. 351-362.

PATÍÑO, Carlos, et al. Selección y regeneración in vitro de somaclones de tomate de árbol (*Solanum betacea* cav. *Sendt*) utilizando filtrados de cultivo de *Colletotrichum acutatum* con actividad pectinasa. En: Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín. Julio/Diciembre de 2007, Vol. 60, no 2. <http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0304-28472007000200006&script=sci_arttext> [Consulta: Octubre 8 de 2015]

PIERIK, R.L.M. Cultivo In vitro de las plantas superiores. Tercera Edición. Versión española de Luis Ayerbe Mateo Sagasta, Madrid. Ediciones Mundi-Prensa, 1990.

SALAZAR, Robinson y HOYOS, Rodrigo. Multiplicación y tuberización in vitro de ñame (*Dioscorea alata* L.) en sistema de inmersión temporal. En: Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín, Julio/Diciembre de 2007, Vol. 60, no 2. <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472007000200005&lng=en&nrm=iso&tlng=es> [Consulta: Octubre 5 de 2015]),

SOMARRIBA, Noelia y PENA, Bernardo, La medición de la calidad de vida en Europa, el papel de la información subjetiva. En: Revista Estudios de Economía Aplicada, 2009, 27 (2). p. 373-396.

TACORONTE, Melángel, et al. Propagación in vitro de caoba (*Swietenia macrophylla* King) a partir de yemas axilares. En: Revista Acta Científica Venezolana, Caracas, 2004, Vol. 55, no 1. <http://www2.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-55042004000100002&lng=es&nrm=i> [Consulta: Octubre 8 de 2015]

THE ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). A framework for biotechnology statistics. 2005.

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID. Micropropagación. <https://alojamientos.uva.es/guia_docente/uploads/2012/427/52016/1/Documento11.pdf> [Consulta: Septiembre 29 de 2015]

URDANETA, Jeanetvska, et al. Aspectos morfoanatómicos de callos originados durante el proceso de embriogénesis somática en banano Williams subgrupo Cavendish (*Musa* sp. Grupo AAA). En: Revista Agronomía tropical, 2006, Vol. 56, no 4. <http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/Agronomia%20Tropical/at5604/pdf/urdaneta_j.pdf> [Consulta: Octubre 8 de 2015]

VELÁSQUEZ, Rosalía, et al. Embriogénesis somática en cultivares de cacao Venezolanos. En: Revista Agronomía tropical, Marzo de 2006, Vol. 56, no 1. <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0002-192X2006000100004&script=sci_arttext> [Consulta: Octubre 8 de 2015]

10 ANEXOS

Anexo A. Formato cuestionario cerrado



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
Cuestionario base para determinar relaciones causales en cultivo in vitro



Nombre: _____
Cargo: _____
Campo de estudio: _____

1. Considera el uso del cultivo in vitro, una biotecnología vegetal de tipo:

Positiva ☐
Negativa ☐

2. Los factores que motivan la realización de cultivo in vitro, se relacionan con procesos de tipo (Puede seleccionar más de una opción):

☐ Económico
☐ Político
☐ Social
☐ Académico
☐ Natural/ Biofísico
☐ Otro(s), ¿Cuál(es)? _____

3. La implementación del cultivo in vitro da solución a problemas de tipo (Puede seleccionar más de una opción):

☐ Económico
☐ Político
☐ Social
☐ Natural/biofísico
☐ Académico
☐ No da soluciones
☐ Otro(s), ¿Cuál(es)? _____

4. ¿Quiénes y/o qué componentes se ven beneficiados por la implementación de prácticas de cultivo in vitro? (Puede seleccionar más de una opción):

☐ Pequeños agricultores
☐ Grandes agricultores
☐ Investigadores
☐ Viveristas
☐ Compañías
☐ Sociedad
☐ Inversionistas
☐ Academia
☐ Suelo
☐ Agua
☐ Aire
☐ Biodiversidad
☐ Ningún componente
☐ Otros, ¿Quiénes o qué? _____

5. ¿Considera usted que hay afectados al realizar prácticas de cultivo in vitro? (Incluye factores asociados tanto al recurso humano como al natural)

☐ Pequeños agricultores
☐ Grandes agricultores
☐ Investigadores
☐ Viveristas
☐ Compañías
☐ Sociedad
☐ Inversionistas
☐ Academia
☐ Suelo
☐ Agua
☐ Aire
☐ Biodiversidad
☐ Otros, ¿Quiénes o qué? _____

6. Los impactos asociados a la implementación de técnicas de cultivo in vitro son en su mayoría:

Positivos ☐ Negativos ☐

De acuerdo a lo anterior, sus impactos afectan factores (Puede seleccionar más de una opción):

☐ Económicos
☐ Políticos
☐ Sociales
☐ Académicos
☐ Naturales o biofísicos
☐ Otros, ¿Cuáles? _____



Fuente: Elaboración propia

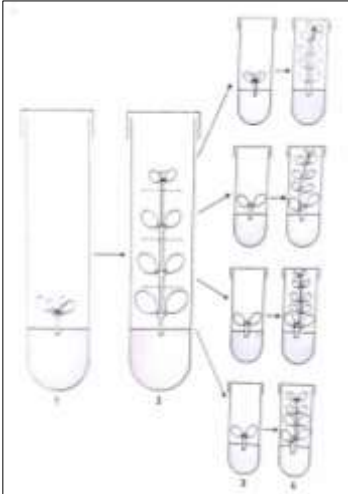
Anexo B. Lista de encuestados y descripción

	Nombre	Cargo	Campo de estudio
1	Luis Carlos Montenegro Ruiz	Profesor Universidad Nacional de Colombia	Cultivo de algas
2	Ana María Castillo Alonso	Científico Titular del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), España	Mejora Genética
3	Graciano Calva Calva	Investigador del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN), México	Biotecnología vegetal y Metabolismo Secundario
4	María Pilar Valles	Investigador Científico, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), España	Obtención de doble haploides
5	Josefina Pérez Vargas	Profesor Investigador Tecnológico de estudios superiores de Ecatepec (TESE), México	Biotecnología
6	Francisco Villegas	Gerente Orquifollajes, Medellín-Colombia	Propagación de orquídeas
7	María Elena García Martín	Ingeniero Técnico Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), España	Agricultura
8	Arancha Arbeloa Matute	Investigador Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), España	Cultivo in vitro de plantas
9	Esther Julia Naranjo	Docente Universidad de Antioquia	Biotecnología vegetal
10	Marie Tamara González	Docente área Biología. Programa Tecnología Agroindustrial, Decanato de Agronomía. Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado”. Barquisimeto, Estado Lara. Venezuela	Ingeniero Agrónomo. Maestría en Horticultura. Cursante doctorado en Ciencias Biológicas. Área de investigación, Biotecnología de plantas.
11	Inés Mataix	Directora INVISA, España	Micropropagación
12	Pedro Rocha	Especialista internacional, Coordinador en Biotecnología y Bioseguridad IICA-sede central (Costa Rica)	Biotecnología y bioseguridad
13	Innan Godínez García	Director general de Invitroorquid, México	Biología- Biotecnología
14	Sonia Gómez	Instituto de Biología, Universidad de Antioquia	Biología
15	Aleyda Acosta Rangel	PhD Candidacy- University of California Riverside	Fisiología vegetal
16	Dagoberto Castro R.	Líder grupo de Biotecnología Vegetal-Universidad Católica de Oriente (UCO), Colombia	Biotecnología vegetal
17	Alina K. Sigarroa	Docente investigador Universidad Francisco de Paula Santander, Colombia	Biotecnología vegetal
18	Claudia L. García Delgado	Docente cátedra Universidad Francisco de Paula Santander, Colombia	Biotecnología vegetal- gestión de proyectos
19	Elizabeth Cristo Valdés	Investigador de mejoramiento genético de las plantas, Cuba	Mejoramiento genético de las plantas
20	Colomborquídeas	Especies colombianas y andinas, especialmente Masdevallias y otras Pleurothallidinae, Oncidíneas, Híbridos de Odontoglossum y Miltoniopsis	Cultivado de orquídeas
21	Juan Antonio Marín Velázquez	Científico Titular del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), España	Fruticultura- Cultivo in vitro
22	Diana Lucia Suarez	Auxiliar de investigación Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia	Química industrial
23	Paola Andrea López	Auxiliar de investigación Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia	Biología
24	Liliana Isaza	Asistente de investigación Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia	Administración ambiental
25	Gina Gómez	Auxiliar de investigación Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia	Administración ambiental
26	Juan Sebastián Barrera	Profesional de proyectos-Centro de Gestión Ambiental-Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia	Agroecología y soberanía alimentaria
27	Miguel Ángel Dossman Gil	Docente Universidad Tecnológica de Pereira	Desarrollo rural
28	Andrés Duque	Docente Universidad Tecnológica de Pereira	Agroecología
29	Alexander Feijoo Martínez	Docente Universidad Tecnológica de Pereira	Zootecnia, Ciencias agropecuarias
30	José Uriel Hernández Arenas	Docente Universidad Tecnológica de Pereira	Agroecología

Fuente: Propia

Anexo C. Ficha recopilatoria de métodos de propagación vegetativa in vitro

 	<p align="center">UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Ficha de recolección de información bibliográfica Métodos</p>
MÉTODO	
<i>CULTIVO DE SEGMENTOS NODALES</i>	
DESCRIPCIÓN	
<p>Con este nombre se conoce al aislamiento de una yema, junto con una porción de tallo, es decir una microestaquilla. Este es el método más natural de propagación vegetativa de las plantas in vitro, ya que también puede aplicarse in vivo. Cada una de las yemas que se encuentran en las axilas de las hojas, idénticas a las del ápice del tallo, pueden ser aisladas sobre un medio nutritivo, obteniendo así su desarrollo in vitro, realizándose los subcultivos cuando son necesarios, aproximadamente cada 4 semanas. Cuando se obtiene un número suficiente de brotes, estos son enraizados y finalmente se realiza la aclimatación o transferencia a tierra.</p> <p>Un aspecto a tener en cuenta es que para reducir las posibilidades de infección, es mejor iniciar el proceso con yemas cerradas. En el caso de que se presenten infecciones internas, hay que recurrir a otros métodos complementarios como termoterapia o añadir antibióticos al medio varias veces seguidas.</p> <p>El primer trabajo de investigación sobre este método se llevó a cabo con esparrago y la aplicación de este método se hace con éxito en diferentes plantas: Guayaba (OCAMPO, Fabiola y Núñez, 2007), ñame (CABRERA, Manuel, et al. 2012 y SALAZAR, Robinson y HOYOS, Rodrigo. 2007), Eucalipto (CASTRO, Dagoberto y SANCHEZ, Gustavo. 2010), etc.</p>	
VENTAJAS/DESVENTAJAS	
<p>Ventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se pueden iniciar muchas plantas en un espacio limitado, partiendo de unas pocas plantas madres. • Es poco costoso, rápido y sencillo, no necesitando de las técnicas especiales que se emplean para el injerto. • La planta progenitora suele reproducirse con exactitud sin variación genética (EcuRed. 2015). <p>Desventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> • El aislamiento por este método es prácticamente imposible cuando se trata de plantas en roseta (como las Bromeliáceas, gerbera, etc.) y cuando las posibilidades de infección son altas. • No resulta fácil el enraizamiento de vástagos adultos en las plantas leñosas, recomendándose una rejuvenilización inicial. • Frecuentemente se da dormición en las plantas leñosas de los climas templados 	

ESQUEMA/IMAGEN	
	
Fuente: Pierik	
MÉTODO	
YEMAS AXILARES	
DESCRIPCIÓN	
<p>En principio este método es muy similar al de los segmentos nodales; siendo la diferencia más importante el que en este último caso se utilizan casi exclusivamente plantas con tallos largos, y que generalmente no se necesita la citoquinina para el desarrollo de las yemas.</p> <p>Cuanto se utiliza este método se aísla un ápice del vástago, a partir del cual se desarrollan las yemas axilares, de las axilas de las hojas, bajo la influencia de una concentración relativamente alta de citoquininas. Esta elevada concentración de citoquininas frena la dominancia apical y permite el desarrollo de las yemas axilares. Es interesante hacer notar que los principios de este método ya se conocían en 1925: el meristemo apical impide el desarrollo de las yemas axilares, y su eliminación hace que la dominancia desaparezca. Después del descubrimiento de la primera citoquinina (kinetina), se pudo ver que la dominancia apical también se podía romper añadiendo citoquininas. Si un ápice del vástago contiene varias ramas axilares o laterales, y se siembra sobre un medio conteniendo citoquinina, se producen nuevos vástagos axilares. Cuando se produce un número suficiente de vástagos, pueden ser enraizados, y las plántulas obtenidas trasplantadas al suelo.</p> <p>En la práctica el método de explantos nodales se usa generalmente en combinación con el método de las yemas axilares; se permite a una yema que se desarrolle y posteriormente se añade citoquinina para inducir la formación de vástagos axilares.</p> <p>Este método fue utilizado por primera vez por Hackett y Anderson (1967), para clavel; después por Adams (1972) y Boxus (1973, 1974) para fresa, y por Pierik et al. (1973, 1974, 1975a) y Murashige et al. (1974) para gerbera. Actualmente se ha utilizado para el Caoba (TACORONTE, Melángel, et al. 2004), bambú (GARCÍA, Yudith, et al. 2007), piña (BLANCO, Héctor, et al. 2011).</p>	
VENTAJAS/DESVENTAJAS	
<p>Ventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Las citoquininas tienen la capacidad de romper la dormición de las yemas de algunas plantas como la gerbera. • El método resulta generalmente más simple que otros métodos de multiplicación • La velocidad de multiplicación es relativamente alta. • Generalmente se mantiene la estabilidad genética 	

- El crecimiento de las plantas obtenidas es muy bueno, quizá debido a la juvenilización y/o a la falta de infecciones.

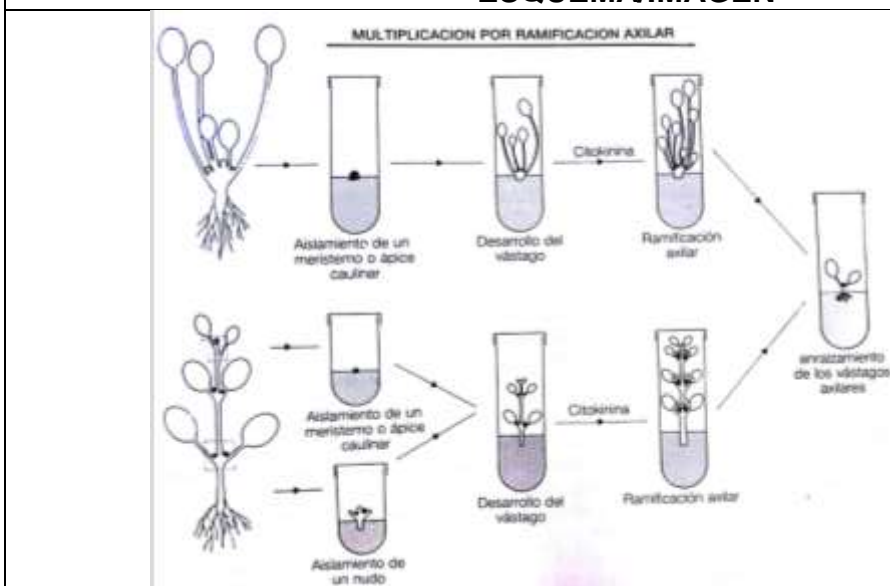
En la producción de frutos:

- Se hace posible la propagación rápida de nuevos patrones y cultivares, y de material libre de enfermedades.
- Haciendo la propagación de los cultivares sobre sus propias raíces, el injertado sobre patrones se hace así innecesario en algunos casos, ahorrando coste de mano de obra.
- La propagación in vitro también disminuye la pérdida del material que se produce por fallos en el injertado, en la propagación in vivo. Sin embargo, no se debe olvidar que ésta pérdida de material puede producirse también in vitro, por fallos en la transferencia de material al suelo.
- La propagación se hace independiente de las estaciones del año, ya que el material vegetal puede ser almacenado a baja temperatura o plantado en invernadero.

Desventajas

- Las infecciones internas constituyen un problema cuando se utiliza el método de las yemas axilares. Especialmente en el caso de las plantas en roseta, el aislamiento en condiciones estériles es a veces difícil.
- Cortar un ápice del vástago de forma longitudinal, y sembrarlo con su lado plano apoyado sobre un medio nutritivo rico; para que las infecciones internas se expresen de una forma más rápida puede conducir a la muerte de la planta.
- Concentraciones elevadas de citoquininas producen: proliferación de ramas laterales, diferentes formas de hojas, formación de callo y formación de vástagos adventicios, estos últimos pueden producir mutaciones.
- El método in vitro supone la utilización de una mano de obra muy intensiva, y, por lo tanto, resulta demasiado caro para ser introducido.

ESQUEMA/IMAGEN



Fuente: Pierik

MÉTODO

REGENERACIÓN DE EXPLANTOS

DESCRIPCIÓN

La regeneración de órganos (por formación adventicia o por nueva formación) que no estuvieran presentes en el momento del aislamiento, es un proceso complejo debido a que las correlaciones

existentes deben ser rotas, antes de establecer otras nuevas que conduzcan a la regeneración de órganos.

En ese proceso se pueden distinguir las siguientes etapas:

- Desdiferenciación de células diferenciadas (que conduce probablemente a una redefinición y rejuvenecimiento de las células)
- División celular, generalmente seguida por la formación de callo; cuando se dirige la división celular, puede comenzar la iniciación de órganos.
- Iniciación de órganos (formación)
- Desarrollo de órganos

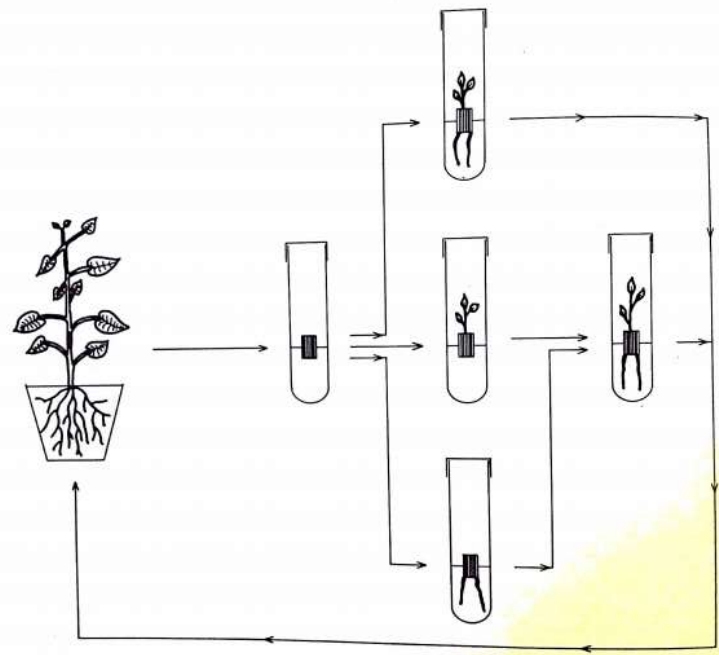
Es necesario tener en cuenta que es imposible la generalización, ya que cada especie, y en algunos casos cada cultivar en particular, tiene sus propias necesidades. Algunas plantas que se han trabajado mediante este método son el lulo (MEDINA. Miguel, et al., 2008), tomate de árbol (PATIÑO, Carlos, et al. 2007).

VENTAJAS/DESVENTAJAS

Desventajas

- La formación de raíces generalmente se opone a la formación de vástagos y viceversa (aunque esto no siempre ocurre). Es mejor al principio inducir la formación de vástagos adventicios, y posteriormente inducir la formación de las raíces.
- Comparado con el método de los vástagos axilares en este método el número de plantas que puede formar vástagos adventicios es mucho más pequeño que el que puede formar raíces adventicias.
- Las posibilidades de que surjan mutantes por este método son mucho más elevadas que utilizando los dos métodos anteriores.

ESQUEMA/IMAGEN



Fuente: Pierik

MÉTODO

INDUCCIÓN DE CALLOS, CULTIVO DE CALLOS Y REGENERACIÓN DE ÓRGANOS Y EMBRIONES

DESCRIPCIÓN

Un callo es básicamente un tejido tumoral, más o menos organizado, que generalmente surge sobre heridas de órganos y tejidos diferenciados. Se llama inducción del callo al inicio de su formación. Es posible la formación de callos con muchas especies diferentes, posteriormente los callos se cultivan en un medio diferente, y nos referimos a ellos como subcultivos de callo. En condiciones excepcionales, y a veces de forma espontánea, se puede producir la regeneración de órganos adventicios y/o embriones, a partir de callos. En un medio líquido, un callo puede formar agregados (masas de células), o células individuales. Se pueden regenerar plantas completas incluso a partir de células individuales, es la idea de la totipotencia.

Inducción del callo: Si en el explanto aislado, solo existen células diferenciadas, es necesario producir una dediferenciación, antes de que tenga lugar la división celular, siendo las células parenquimáticas las que generalmente pueden sufrir este proceso (Halperin, 1969). Si un explanto contiene tejido meristemático en el momento de su aislamiento, este se puede dividir de forma inmediata, sin necesidad de que se produzca una dediferenciación. La dediferenciación juega un papel muy importante, ya que permite, a las células maduras de un explanto, de una planta adulta, presentar una redefinición. En este proceso, las células adultas son capaces, de forma temporal, de pasar desde su forma adulta a su forma juvenil (rejuvenecimiento). Con este rejuvenecimiento las células son inducidas a dividirse de forma intensiva, además presentan un mayor crecimiento y potencial de división; son capaces, en circunstancias especiales, de regenerar órganos y/o embriones.

Después de la dediferenciación las células se empiezan a dividir, bajo el uso de algunos reguladores de crecimiento, formando el callo. Cualquier tipo de órgano (raíz, tallo, hoja, flor, etc.) o tejido puede ser utilizado como material inicial para la inducción de callo. Si resulta difícil o se precisa un callo juvenil, se utilizan embriones (inmaduros) o fragmentos de plántulas. Es necesario tener en cuenta que tanto el material inicial como la posición del explanto sobre la planta pueden influir en la división celular y la formación de órganos y embriones. Para la formación de callo hay plantas que necesitan solo auxinas, otras solo citoquininas y otras ambas.

Cultivo de callos: Después de conseguida la inducción, el callo se cultiva sobre un medio nuevo, sólido o líquido. Las condiciones de crecimiento son generalmente semejantes a las que se utilizan para la inducción del callo, sólo las concentraciones de auxina y citoquinina son normalmente más bajas. Si después del subcultivo se detiene el crecimiento indica que el medio no es adecuado. El tejido calloso procedente de diferentes especies vegetales, puede presentar diferencias en estructura y hábito de crecimiento.

Regeneración de órganos y embriones: Dependiendo de la especie vegetal y de donde se ha originado el callo, se puede producir la formación de órganos adventicios y/o la formación de embriones que reciben el nombre de somáticos.

Regeneración de órganos: Los callos son generalmente más capaces de regenerar raíces, que los vástagos adventicios. La formación de raíces generalmente tiene lugar en medios con concentraciones de auxina relativamente altas, pero concentraciones de citoquininas bajas. Las raíces y los vástagos se forman por lo general de forma completamente independiente unos con respecto a los otros.

Regeneración de embriones: Cuando los embriones se regeneran a partir de células o tejidos somáticos, se habla de una embriogénesis somática, denominada también embriogénesis adventicia o asexual y los embriones somáticos son denominados estructura de tipo embrionario, embriones vegetativos o adventicios, embrioides.

Consiste en el desarrollo de embriones a partir de células que no son el producto de una fusión gamética, o en otras palabras, es un proceso por el cual se produce una estructura bipolar (embrión) a

partir de una célula somática. Los primeros en obtener y desarrollar embriones somáticos fueron Steward y Reinert (1958) a partir de tejidos de zanahoria, a esta especie modelo para el estudio de la embriogénesis somática se han añadido hasta la fecha más de 30 especies, algunas tan importantes como la alfalfa y leñosas forestales se multiplican comercialmente en la actualidad por este método.

Se pueden obtener embriones somáticos de muy diversas partes de la planta, así podemos utilizar como explantos: ápices radiculares y caulinares, hipocótilos, peciolo, pedúnculos, hojas jóvenes y en general tejidos y órganos con características embrionarias, meristemáticas o reproductivas (embriones e inflorescencias inmaduras, trozos de escutelo, nucela y endospermo, óvulos, tejido ovárico).

Existen dos tipos de embriogénesis somática in vitro: directa e indirecta. La forma directa implica la existencia de células somáticas predeterminadas a seguir la vía embriogénica y las células del explanto primario se desarrollan para formar embriones (ej. nucela de cítricos). La forma indirecta implica la necesidad de una inducción para que las células sigan la vía embriogénica, tras pasar por una fase proliferativa (callo) y cambiar su competencia a la expresión de embriogénesis. El proceso ocurre en dos etapas: En la primera fase células competentes aisladas en medios ricos en auxinas forman grupos de células embriogénicas (centros embriogénicos). En la fase dos, una vez repicados los centros embriogénicos a un medio sin auxinas, estos proliferan de forma lenta e indiferenciada. Luego se producen una serie de rápidas y sucesivas divisiones celulares en distintas zonas del centro embriogénico y se conforman embriones globulares, que al crecer pasando por los estados de corazón y torpedo y tras una fase de maduración y germinación darán lugar a plantas completas (LÓPEZ, Carlos y PERÁN, Rosa. 1997).

Algunos de las plantas que se han propagado mediante este método son: Banano (URDANETA, Jeanetvska, et al. 2006), cacao (VELÁSQUEZ, Rosalía, et al. 2006) y musáceas (BARRANCO, Luis, et al., 2003).

VENTAJAS/DESVENTAJAS

Desventajas

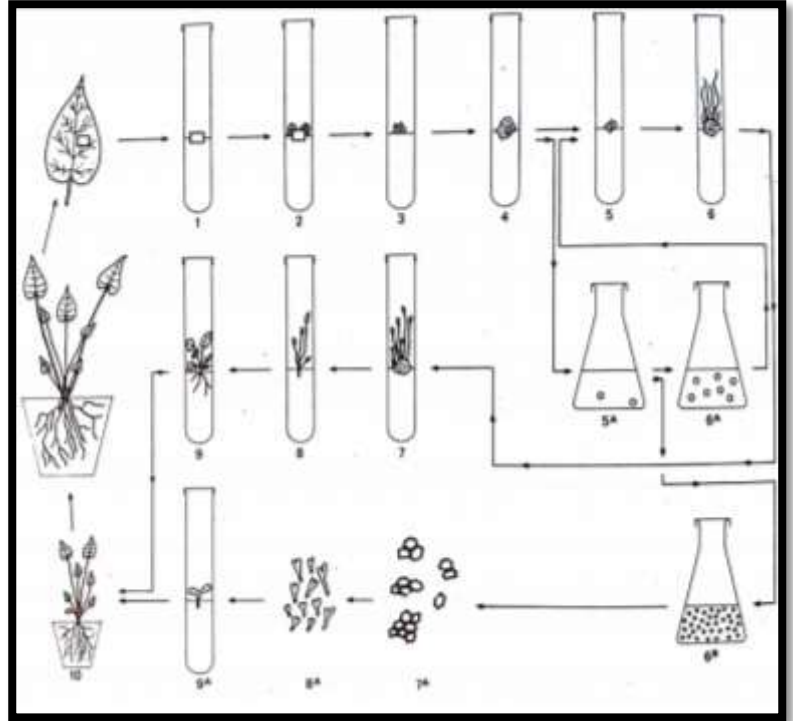
- En algunas ocasiones el crecimiento del callo no es viable sobre medios sintéticos, requiriendo que se añadan mezclas complejas de sustancias (leche de coco, hidrolizado de caseína, extracto de malta, extracto de levadura, etc.).
- La capacidad regenerativa de las células y del tejido calloso, se puede reducir o perder completamente, si el crecimiento continúa durante mucho tiempo
- Presenta una serie de problemas, produciéndose anomalías morfológicas, fisiológicas y genéticas en los cultivos, fenómenos de poliembriónía indeseables, falta de maduración y dormancia o germinación prematura de los embriones en cultivo.
- La embriogénesis no puede aplicarse a gran escala más que a un todavía no muy grande número de especies.

Ventajas

Una enorme capacidad de multiplicación aplicable industrialmente, permite obtener en un solo proceso estructuras completas con ápice y raíz, que pueden ser almacenadas y encapsuladas perfectamente.

ESQUEMA/IMAGEN

Se comienza retirando una hoja joven de una planta, se esteriliza y se obtienen a partir de ella los explantos. En el tubo 1 se ha producido el aislamiento de un explanto foliar (medio sólido), para obtener tejido calloso sobre las superficies lesionadas. Esto último se consigue en el tubo 2. En el tubo 3 se realiza un subcultivo del callo, sobre un medio sólido; para ello, el callo formado en el tubo 2 es troceado y sembrado en el tubo 3; consiguiéndose un gran desarrollo en el tubo 4. El desarrollo posterior al del tubo 4 puede tener lugar sobre un medio sólido o líquido (por ejemplo, en matraces Erlenmeyer colocados en un agitador).



En el matraz 5ª se han sembrado algunos agregados de células del callo, que han sido capaces de multiplicarse en el transcurso de algunas semanas (matraz 6a). Si se necesita, la multiplicación en un medio líquido puede llevarse a cabo repetidamente. La formación de órganos se desarrolla normalmente sobre un medio sólido; para ello el tejido calloso del tubo 4 o del matraz 6ª se siembra sobre un medio formador de órganos en el tubo 5.

En el tubo 6 se pueden observar los vástagos adventicios obtenidos a partir de un callo. Aunque los embriones se pueden originar a partir de callos cultivados sobre un medio sólido, la embriogénesis se produce más frecuentemente en medio líquido, como se muestra en las figuras 7ª y 8ª. Los embriones se transforman en plantas, sobre un medio sólido, tubo 9ª, que posteriormente se trasplantan al suelo, para su posterior desarrollo (10).

Cuando se producen vástagos adventicios, sobre un medio sólido, tubos 6 y 7, se pueden obtener esquejes, como en el tubo 8, que se enraízan, tubo 9, y finalmente pueden ser trasplantados al suelo (10).

MÉTODO

REGENERACIÓN DE PLANTAS A PARTIR DE CÉLULAS AISLADAS

DESCRIPCIÓN

Muir et al. (1954,1958) fueron los primeros en cultivar con éxito células aisladas de tabaco; colocaban las células aisladas sobre papel filtro, que a su vez se situaba sobre un callo madre. A este método se le denomina en la literatura cultivo nodriza, ya que el callo madre suministra a la célula aislada las hormonas y nutrientes necesarios, a través del papel de filtro, facilitando el crecimiento y división celulares. Casi inmediatamente después de este descubrimiento, Bergmann (1960) desarrolló un método mucho mejor. Filtró un cultivo en suspensión, para obtener una población de células separadas, sobre las que podía ejercer un cierto control. Estas células se mezclaban con un medio nutritivo y agar; el medio aún caliente se vertía en forma de una capa fina sobre una placa de Petri. Utilizando este método se consiguió la división celular y la formación de callo, en aproximadamente el 20% de las células de tabaco y de judía.

Se utilizan los siguientes sistemas como material inicial para el cultivo de células aisladas (Thomas y

Davel, 1975; Thomas et al., 1979):

- Cultivos en suspensión, filtrados a través de un tamiz fino, tejido de nylon o gasa, para conseguir una suspensión celular.
- Callo de otros tejidos, que se separa en células individuales, de forma mecánica o con la ayuda de la enzima pectinasa.
- Tejidos como la epidermis de las hojas, que después de un tratamiento con enzimas dan células sueltas sin pared celular o protoplastos. Posteriormente forman pared celular y son capaces de regenerar una planta.
- Granos de polen

La regeneración de una planta a partir de una célula aislada se realiza así: en primer lugar se debe originar una colonia de callo, a partir de la célula. A partir del callo se forman embriones o vástagos adventicios. Algunas de las plantas que se han regenerado mediante células aisladas son: *Nicotiana tabacum*, *Daucus carota*, *Cichorium endivia*, *Asparagus officinalis*, *Brassica napus* y *Cirus sinensis*.

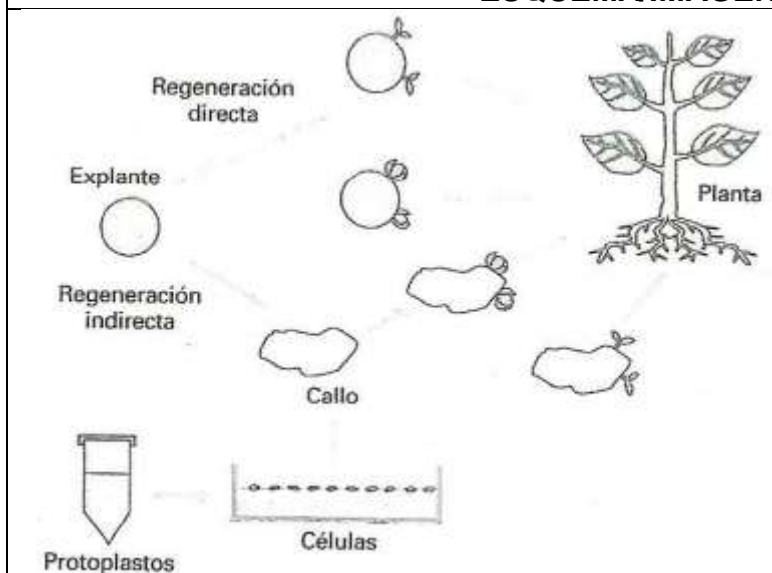
VENTAJAS/DESVENTAJAS

Desventajas

Cuando falla la regeneración de una planta, se debe a que:

- Las células no se desdiferencian y rejuvenecen en suficiente medida.
- Las células no son totipotentes, cosa que está por lo general genéticamente determinada.

ESQUEMA/IMAGEN



Fuente: NEJOY, Christian

MÉTODO

SEMILLAS SINTÉTICAS

DESCRIPCIÓN

Para conseguir que la producción de embriones somáticos sea aplicable en la práctica, se debe proveer un sistema de presentación, que permita la supervivencia después de la "siembra", el desarrollo posterior y finalmente la germinación. Para conseguir esto, los embriones formados in vitro son protegidos por una cubierta, y en estas condiciones se les denomina semillas artificiales.

Se han desarrollado dos sistemas para el manejo automático de estas semillas sintéticas:

1. Encapsulación: El embrión somático se recubre con un gel que contiene nutrientes.

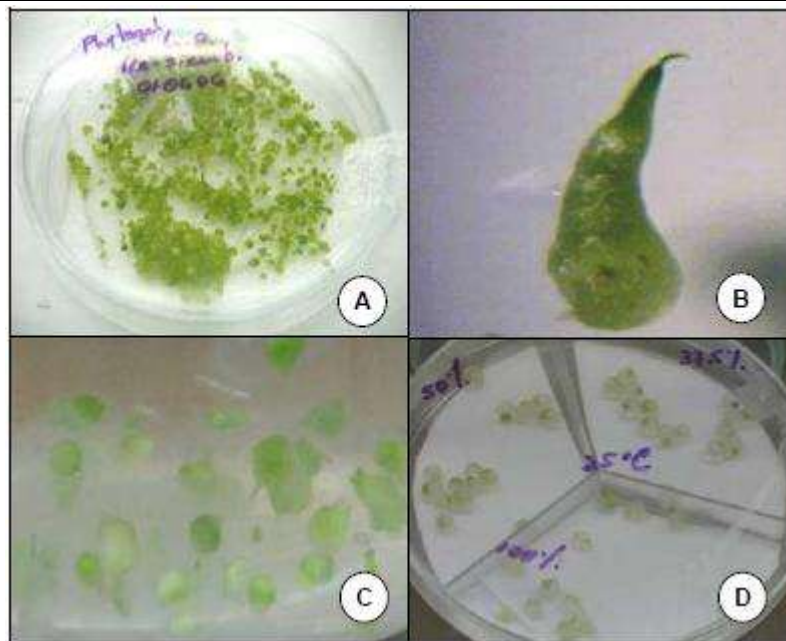
2. Sembrando los embriones somáticos por el método de siembra fluida. En este caso los embriones son también envueltos en un gel, que contiene algunos aditivos, antes de ser sembrados en el suelo.

VENTAJAS/DESVENTAJAS

Desventajas

- El desarrollo de una semilla artificial, estable durante varios meses, implica la utilización de procedimientos físicos y químicos para conseguir un embrión quiescente.
- La semilla artificial necesita protección contra la desecación, cuando se almacena en condiciones de sequedad. Si se produce una deshidratación la semilla puede entrar en dormición. Los embriones deben ser protegidos también, y estabilizados durante el transporte, almacenaje y siembra.
- La obtención de plantas, a partir de embriones somáticos encapsulados, se realiza frecuentemente en baja proporción, debido a que se suele dar formación incompleta de los embriones y dificultad para frenar el crecimiento
- Dificultad para producir un endospermo artificial en el interior de la capsula (el embrión precisa nutrientes).
- Las semillas sintéticas son más caras que las semillas ordinarias aunque esa diferencia de precio inicial puede ser compensada más tarde.

ESQUEMA/IMAGEN



En la imagen se observa la selección y encapsulación de embriones somáticos para la creación de semilla sintética: A) embriones somáticos desarrollados en medio de cultivo MS; B) embrión somático en estadio de plúmula; C) embriones somáticos encapsulados suspendidos en la solución de cloruro de calcio; D) cajas de Petri con semillas sintéticas (LEE-ESPINOSA, H.E, et al. 2009).

FUENTE

OCAMPO, Fabiola y Núñez, Víctor. Propagación in vitro de *Psidium guajaba* mediante organogénesis directa a partir de segmentos nodales. En: Revista Corpoica-Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 2007, 8 (1). p. 22-27. <<http://corpomail.corpoica.org.co/BACFILES/BACDIGITAL/49110/49114.pdf> > [Consulta: Octubre 5 de 2015]

CABRERA, Manuel, et al. Multiplicación in vitro de segmentos nodales del clon de ñame Blanco de Guinea (*Dioscorea cayenensis* - *D. rotundata*) en sistemas de cultivo semiautomatizado. En: Revista colombiana de biotecnología, Julio/Diciembre de 2012, Vol. 10, no 2. <http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-34752008000200011&script=sci_arttext&tlng=pt> [Consulta: Octubre 5 de 2015]

- SALAZAR, Robinson y HOYOS, Rodrigo. Multiplicación y tuberización in vitro de ñame (*Dioscorea alata* L.) en sistema de inmersión temporal. En: Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín, Julio/Diciembre de 2007, Vol. 60, no 2. <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472007000200005&lng=en&nrm=iso&tlng=es> [Consulta: Octubre 5 de 2015]],
- CASTRO, Dagoberto y SANCHÉZ, Gustavo. Propagación clonal in vitro de *Eucalyptus pellita* F.Muell a partir de árboles plus. En: Revista Temas agrarios, Enero/Julio de 2010, Vol. 15, no 1. <[http://revistas.unicordoba.edu.co/rta/documentos/15-1/RTA%20ON%20LINE/ARTICULOS%20RTA%2015%20\(1\)%20PDF/3.%20PROPAGACION%20EUCALYPTUS.pdf](http://revistas.unicordoba.edu.co/rta/documentos/15-1/RTA%20ON%20LINE/ARTICULOS%20RTA%2015%20(1)%20PDF/3.%20PROPAGACION%20EUCALYPTUS.pdf)> [Consulta: Octubre 8 de 2015]
- EcuRed. Propagación in vitro por segmentos nodales. 2015. <[http://www.ecured.cu/index.php/Propagaci%C3%B3n in vitro por segmentos nodales](http://www.ecured.cu/index.php/Propagaci%C3%B3n_in_vitro_por_segmentos_nodales)> [Consulta: Octubre 05 de 2015]
- TACORONTE, Melángel, et al. Propagación in vitro de caoba (*Swietenia macrophylla* King) a partir de yemas axilares. En: Revista Acta Científica Venezolana, Caracas, 2004, Vol. 55, no 1. <http://www2.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-55042004000100002&lng=es&nrm=i> [Consulta: Octubre 8 de 2015]
- GARCÍA, Yudith, et al. Establecimiento in vitro de yemas axilares de *Bambusa vulgaris* var Vittata. En: Revista Biotecnología Vegetal, julio/septiembre de 2007, Vol. 7, no 3. p. 155-159. <<http://132.248.9.34/hevila/Biotecnologiavegetal/2007/vol7/no3/5.pdf>> [Consulta: Octubre 9 de 2015]
- BLANCO, Héctor, et al. Micropropagación clonal de tres variedades de piña Nativas de la región amazónica mediante cultivo de Yemas axilares y apicales. En: Revista INTERCIENCIA, Junio de 2011, Vol. 36, no 6. <http://www.interciencia.org/v36_06/437.pdf> [Consulta: Octubre 8 de 2015]],
- MEDINA, Miguel, et al. Regeneración in vitro de plantas a partir de explantes foliares del lulo chocoano, *Solanum sessiliflorum* Dunal vía organogénesis. En: Revista Institucional Universidad Tecnológica del Chocó: Investigación, Biodiversidad y Desarrollo, 2008, Vol. 27, no 1. p. 92-95) <<file:///C:/Users/CINDY/Downloads/Dialnet-RegeneracionInVitroDePlantasAPartirDeExplantesFoli-2705043.pdf>>
- PATÍÑO, Carlos, et al. Selección y regeneración in vitro de somaclones de tomate de árbol (*Solanum betacea* cav. Sendt) utilizando filtrados de cultivo de *Colletotrichum acutatum* con actividad pectinasa. En: Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín. Julio/Diciembre de 2007, Vol. 60, no 2. <http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0304-28472007000200006&script=sci_arttext> [Consulta: Octubre 8 de 2015]
- LÓPEZ, Carlos y PERÁN, Rosa. Embriogénesis somática. En: Revista Encuentros en la biología. Abril de 1997, no 39. <<http://www.encuentros.uma.es/encuentros39/embriogenesis.html>> [Consulta: Octubre 8 de 2015]
- URDANETA, Jeanetvska, et al. Aspectos morfoanatómicos de callos originados durante el proceso de embriogénesis somática en banano Williams subgrupo Cavendish (*Musa* sp. Grupo AAA). En: Revista Agronomía tropical, 2006, Vol. 56, no 4. <http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/Agronomia%20Tropical/at5604/pdf/urdaneta_j.pdf> [Consulta: Octubre 8 de 2015]
- VELÁSQUEZ, Rosalía, et al. Embriogénesis somática en cultivares de cacao Venezolanos. En: Revista Agronomía tropical, Marzo de 2006, Vol. 56, no 1.

<http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0002-192X2006000100004&script=sci_arttext> [Consulta: Octubre 8 de 2015]



BARRANCO, Luis, et al. Embriogénesis somática en musáceas. Editorial Universitaria, 2007.

LEE-ESPINOSA, H.E, et al. Encapsulación de embriones somáticos de *Laelia anceps ssp. dawsonii* para la producción de semilla sintética. En: Revista Chapingo: serie horticultura, Enero de 2009, vol. 15. <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2009000400006> [Consulta: Octubre 14 de 2015].

NEJOY, Christian. Regeneración y transformación de plantas. 2012. <<http://fisiolvegetal.blogspot.com.co/2012/12/regeneracion-y-transformacion-de-plantas.html>> [Consulta: Abril 19 de 2016]

Fuente: Propia

Anexo D. Ficha recopilatoria de fases de propagación vegetativa in vitro

<div style="display: flex; align-items: center; justify-content: space-between;">   <div style="text-align: center;"> UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Ficha de recolección de información bibliográfica FASES </div> </div>	
FASE	DESCRIPCIÓN
<p>“0” = Preparación del material vegetal o de la planta madre</p>	<p>Partiendo de que los factores que influyen sobre la calidad del explanto son:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. El tipo de órgano que sirve como explanto 2. La edad ontogenética y fisiológica del mismo. 3. La estación en la que se colecta el material. 4. El tamaño. 5. El estado sanitario general de la planta donante. <p>La correcta elección y preparación del explanto incide directamente sobre la calidad del mismo y su respuesta frente a los dos principales problemas que afectan al establecimiento del cultivo, que son la contaminación con microorganismos y la oxidación del explanto.</p> <p>Esta fase se convierte en fundamental, aunque se refiera a lo que ocurre antes de que el cultivo in vitro comience (El pre-tratamiento correcto del material inicial, manteniendo las plantas, en la medida de lo posible, libres de enfermedades).</p> <p>Para poder establecer el cultivo en condiciones de asepsia, se deben obtener explantes con un nivel nutricional y un grado de desarrollo adecuado. Para obtener estos explantes es recomendable mantener a las plantas madre, es decir la planta donadora de yemas, durante un período de tiempo que puede oscilar entre unas semanas o varios meses en un invernadero bajo condiciones controladas. En ese ambiente se cultiva la planta en condiciones sanitarias óptimas y con un control de la nutrición y riego adecuados para permitir un crecimiento vigoroso y libre de enfermedades. En el caso de frutales es complicado mantenerlas en maceta.</p> <p>Los procesos morfogénicos de floración, dormición y bulbificación son controlados por el fotoperiodo y la temperatura. Controlando estos factores</p>



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
 Ficha de recolección de información bibliográfica
FASES

FASE	DESCRIPCIÓN
	<p>también es posible obtener plantas donantes y explantos más homogéneos durante todo el año. Pueden aplicarse además pretratamientos con reguladores de crecimiento a las plantas donantes, así como también a los explantos mismos. En especies leñosas suele utilizarse como pretratamiento la inmersión de los explantos primarios en soluciones con citoquininas (fitoreguladores) a fin de inducir la brotación de yemas.</p>
<p style="text-align: center;">1 = <i>Establecimiento del cultivo</i></p>	<p>El objeto de esta etapa es establecer cultivos viables y axénicos. En ella se realiza el aislamiento estéril de los meristemos, ápices del vástago, explantos, etc. En esta fase se requiere sólo una condición importante: Llevar a cabo un crecimiento y desarrollo sin contaminación. El éxito depende de:</p> <ul style="list-style-type: none"> - La edad de la planta donante - La edad fisiológica - El estado del desarrollo - Tamaño del explanto <p>Una vez elegida la planta madre, se extraerá el material a partir del cual se obtendrán los explantes. Los explantes pueden ser yemas, trozos de hojas, porciones de raíces, semillas, etc. Los materiales que muestran tener mayor capacidad regenerativa son los obtenidos de tejidos meristemáticos jóvenes, sean yemas axilares o adventicias, embriones o semillas en plantas herbáceas y tejido meristemáticos que como el cambium determinan el crecimiento en grosor de las plantas leñosas. Las yemas adventicias (yemas formadas de novo) tienen una mayor tasa de variación somaclonal en cultivo.</p> <p>La obtención de cultivos axénicos puede lograrse trabajando tanto sobre aspectos preventivos como curativos. Una acción preventiva la constituye el empleo de métodos de verificación de patógenos en los explantos. Esto puede realizarse mediante análisis específicos para las enfermedades del cultivo, tales como los test ELISA o los PCR, análisis generales para patógenos cultivables como el empleo de medios de cultivo para el crecimiento de bacterias y hongos y métodos específicos para la detección e identificación de patógenos intracelulares como virus, viroides y bacterias. La realización de estos análisis directamente sobre las plantas donantes, previo al establecimiento, presenta dos ventajas. En primer lugar, el empleo de tejidos maduros permite visualizar los síntomas más marcados de la enfermedad, en segundo lugar, la carga de patógenos es mayor y por lo tanto la precisión del sistema de detección aumenta. Por otro lado, las plantas enfermas pueden tratarse con técnicas adecuadas para la eliminación de patógenos como la termoterapia, la quimioterapia a través de la aplicación de antibióticos, desinfectantes, antivirales y el cultivo de meristemos.</p> <p>La desinfección superficial incluye varios pasos: el lavado de los explantos con agua corriente, el empleo de etanol al 70% durante 1 minuto, seguido de concentraciones variables de hipoclorito de sodio (0,5 a 1,5% de Cloro activo) con unas gotas de tensoactivos para favorecer su penetración y actividad. Posteriormente, los explantos deben ser enjuagados al menos tres veces con agua destilada estéril. Una vez desinfectado el material vegetal, ha de</p>



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
 Ficha de recolección de información bibliográfica
FASES

FASE	DESCRIPCIÓN
	<p>mantenerse en condiciones de asepsia. A efectos de obtener las condiciones de asepsia, se trabajará con el material vegetal en cabinas de flujo laminar.</p> <p>Luego de la desinfección superficial, las semillas o las yemas dependiendo del material seleccionado, se ponen en medio de cultivo estéril. En un período de una semana o quince días, comienza el proceso de germinación o regeneración de nuevos tejidos vegetales, iniciando el ciclo de cultivo in vitro.</p> <p>Algunos patógenos permanecen latentes y se expresan cuando son transferidos a un medio de cultivo nuevo. En general, estos patógenos incluyen los patógenos superficiales del material vegetal, los patógenos endógenos y los patógenos propios del manejo en laboratorio. En la Etapa 1 también pueden observarse infecciones por bacterias y hongos asociados a trips que sobreviven a los tratamientos de esterilización y por patógenos endógenos latentes dentro del sistema vascular, resultado de una esterilización inefectiva de los explantos. Estos patógenos latentes podrían manejarse mediante el empleo de bacteriostáticos o antibióticos en el medio de cultivo.</p>
<p style="text-align: center;">2= Multiplicación</p>	<p>El primer objetivo de esta fase es conseguir la propagación sin perder la estabilidad genética. Durante esta fase se espera que los explantes que sobrevivieron la FASE 1 originen brotes (de procedencia axilar o adventicia) con varias hojas. En la base de cada hoja hay una yema que se desarrollará luego de ser puesta en contacto con el medio de cultivo, jugando un papel fundamental los reguladores del crecimiento como auxinas, giberelinas y citoquininas y las condiciones de crecimiento. Periódicamente estos nuevos brotes se deben subcultivar en un nuevo medio mediante divisiones y resiembras en tubos de cultivo u otros recipientes adecuados. Estas operaciones se realizan en la cámara de flujo laminar que nos permite mantener las condiciones de asepsia. De esta forma aumenta el número de plantas en cada subcultivo o división de las plantas. El número de plantas que se obtiene dependerá de la especie vegetal y de las condiciones del medio de cultivo. El número de plantas que se obtiene por la vía de la micropropagación in vitro permite alcanzar incrementos exponenciales, una vez que todos los factores que afectan el crecimiento hayan sido optimizados.</p> <p>Existen dos vías de regeneración, ambas pueden darse directa o indirectamente a través de la formación de callo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Organogénesis= Mediante la inducción de yemas axilares o adventicias. - Embriogénesis= vía más conveniente porque permite saltar las etapas de formación de yemas y enraizamiento, regenerando plantas de una forma más rápida y eficiente, disminuyendo además el riesgo de variación somaclonal y además disminuye costos para su implementación a escala comercial. <p>Comúnmente se usa como medio de cultivo en especies leñosas el Murashige y Skoog, MS (1962) suplementado con un 30% de sacarosa como fuente de carbono. A este medio se le adicionan auxinas y citoquininas. Este medio MS se utiliza en la fase de inducción y en la fase de multiplicación. La inducción</p>



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
 Ficha de recolección de información bibliográfica
FASES

FASE	DESCRIPCIÓN
	<p>implica, generalmente, el empleo de concentraciones elevadas de reguladores de crecimiento (generalmente de más auxinas que citoquininas) para favorecer la desdiferenciación. La multiplicación un balance hormonal adecuado para favorecer los procesos de diferenciación y multiplicación celular. En este caso el sistema es más dependiente de reguladores del tipo de las citoquininas.</p> <p>En algunos casos, como ocurre en la formación de embriones somáticos, se requiere de una tercera y cuarta etapa, denominadas de maduración y de germinación respectivamente, cuya duración varía entre 1 a 2 semanas. Para la etapa de maduración se adiciona ácido abscísico (ABA) al medio basal en rangos de 5 a 20 μM, seguido del subcultivo a un medio basal conteniendo ácido giberélico (AG) en concentraciones de 0,1-1 μM, cuyo fin es lograr la germinación de los embriones obtenidos.</p> <p>Los tipos de reguladores, sus combinaciones y rangos de concentraciones deben ser optimizados para cada especie, genotipo y etapa del cultivo determinada. Las condiciones de incubación de los cultivos in vitro dependen de las especies con que se trabaje.</p> <p>Un problema que puede presentarse durante los sucesivos subcultivos in vitro es la vitrificación. La cual consiste en un proceso de morfogénesis anormal con cambios anatómicos, morfológicos y fisiológicos que producen hojas de una apariencia vidriosa. Este fenómeno está regulado por dos factores clave que son la humedad relativa y el potencial agua, y afecta a dos procesos fisiológicos fundamentales, la fotosíntesis y la transpiración. Debido a la disfunción metabólica asociada, las plantas se vuelven completamente heterótrofas y transpiran excesivamente debido a un mal funcionamiento estomático y a cambios estructurales en las paredes celulares.</p>
<p style="text-align: center;">3 = Enraizamiento</p>	<p>Incluye la preparación de los vástagos y plantas, que se obtienen en la FASE 2, para ser transferidos al suelo. Esto significa frenado de la formación de vástagos axilares, e iniciación de la elongación del vástago. A continuación se debe inducir la formación de raíces, ya sea in vitro o posteriormente in vivo.</p> <p>Para enraizar los explantes se utilizan principalmente brotes individuales de un tamaño aproximado de 2 centímetros. Los brotes obtenidos durante la fase de multiplicación se transfieren a un medio libre de reguladores de crecimiento o que solo contenga hormonas del tipo auxinas. Algunas especies de plantas no necesitan pasar por esta etapa y emiten sus raíces en el mismo medio de cultivo donde desarrollan yemas nuevas, por lo tanto el proceso de multiplicación y enraizamiento transcurren en forma simultánea.</p> <p>La formación de raíces adventicias se produce más fácilmente en las herbáceas que en las leñosas dada su limitada capacidad rizogénica. Puede realizarse el enraizamiento in vitro o in vivo. En el primer caso se utiliza un medio de cultivo estéril con menos cantidad de nutrientes y como regulador de crecimiento auxinas para promover la rizogénesis. Para el enraizamiento in</p>



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
 Ficha de recolección de información bibliográfica
FASES

FASE	DESCRIPCIÓN
	<p>vivo, los explantes se sumergen durante 30 segundos en una auxina y se pasan a un sustrato. Los sustratos incluyen perlita y/o vermiculita humedecidas con medio nutritivo o agua y se colocan directamente en el invernadero, en el túnel de aclimatación.</p> <p>El empleo de agar presenta ventajas y desventajas sobre la rizogénesis. Por un lado, el enraizamiento de especies forestales en agar se favorecería al producirse una rizogénesis más sincrónica como resultado del contacto íntimo de las estacas con el medio de cultivo. Sin embargo, las raíces producidas por este método son usualmente engrosadas y no poseen pelos radiculares. Adicionalmente, el empleo de agar está asociado con la formación de callo en la base de las estacas, que conduce al establecimiento de conexiones vasculares interrumpidas entre raíces y vástagos. Comúnmente, a fin de proceder a su enraizamiento, los vástagos de buenos tamaños provenientes de la etapa de multiplicación y provistos de al menos 4-5 yemas, se colocan durante periodos cortos en soluciones con concentraciones elevadas de auxinas. La auxina más utilizada es el IBA, que puede utilizarse a concentraciones de 1-10 μM durante pocas horas. Alternativamente se pueden emplear niveles más bajos de auxinas (0,1 a 1 μM), pero manteniendo la inducción por un periodo más prolongado (3 a 7 días). Luego los vástagos se transfieren a un medio de cultivo basal desprovisto de reguladores de crecimiento para permitir el desarrollo de las raíces. Aproximadamente 20 días después del tratamiento de inducción, es posible la obtención de una adecuada cantidad de raíces funcionales que permitan continuar hacia la etapa de aclimatación. Es importante acentuar que el uso de auxinas a elevadas concentraciones es contraproducente porque induce la formación de callo en la base de las estacas. Por ello para cada cultivo es necesario optimizar un protocolo de rizogénesis que minimice la formación de callo y maximice la tasa de rizogénesis y supervivencia de las plantas.</p>
4 = Aclimatación	<p>Comprende la transferencia desde el tubo de ensayo al suelo y el establecimiento de las plántulas. Es la continuación del enraizamiento de forma ex vitro, por lo cual permite enraizamiento y aclimatación simultáneamente y que raramente se forme callo en la base de las estacas, asegurando así una conexión vascular continua entre el vástago y la raíz.</p> <p>Los explantes recién enraizados son muy sensibles a los cambios ambientales, de manera que el éxito o el fracaso de todo el proceso depende de la aclimatación. Se utilizan distintos sustratos, mezclas de tierra y arena y/o abonos. La aclimatación debe llevarse a cabo en invernaderos o cámaras con temperatura y humedad relativa moderadas, debido a que en esta etapa las plantas sufrirán cambios de diferente tipo que permitirán la adaptación de las mismas a vivir en condiciones naturales. En el momento en que se extraen los explantes enraizados de los frascos, están poco adaptados a crecer en un invernadero, ya que han enraizado y crecido en ambientes con una humedad relativa muy elevada y generalmente tienen estomas (estructuras responsables de regular la transpiración y pérdida de agua en la planta) que no son completamente funcionales frente a descensos de la humedad relativa,</p>

  <p style="text-align: center;">UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Ficha de recolección de información bibliográfica FASES</p>	
FASE	DESCRIPCIÓN
	y por lo tanto demasiado lentos para evitar la desecación del explanto. Por otra parte, crecer en ambientes tan húmedos también suele implicar la falta de una cutícula con cera bien desarrollada, que representa la barrera física para evitar la pérdida de agua a lo largo de toda la superficie de la planta.
FUENTE	<p>UNIVERSIDAD DE VALLADOLID. Micropropagación. <https://alojamientos.uva.es/guia_docente/uploads/2012/427/52016/1/Documento11.pdf> [Consulta: Septiembre 29 de 2015]</p> <p>CASTILLO, Alicia. Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. <http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf> [Consulta: Septiembre 29 de 2015]</p> <p>OLMOS, Sofía, <i>et al.</i> Métodos de propagación y conservación de germoplasma. En: Biotecnología y mejoramiento vegetal II. Segunda Edición. Argentina. p. 351-362.</p> <p>PIERIK, R.L.M. Propagación vegetativa. En: Cultivo in vitro de las plantas superiores. Madrid. p. 181-226.</p>

Fuente: Propia

Anexo E. Tabla de componentes y cantidades para 1L de MS y ME

1 litro		Multiplicación	Enraizamiento
MEDIO		MS	ME
Botella Sol. stock		ml/l	ml/l
1	NH ₄ NO ₃	10	5
3	KNO ₃	10	5
4	CaCl ₂ ·2H ₂ O	10	5
5	MgSO ₄ ·7H ₂ O	10	5
6	KH ₂ PO ₄	10	5
12	FeNaEDTA	10	10
13	Micro	10	10
101	Tiamina	0.4	0.4
102	A. Nicotínico	0.5	0.5
103	Peridoxina	0.5	0.5
109	Glicina	2	2
201	IAA aux(1mM)		
203	IBA aux(1mM)	0.5	5
204	NAA aux(1mM)		
205	2,4D aux(1mM)		
208	Kin cit(1mM)		
214	BAPcit(1mM)	5	
I-1	Inositol	0.1 g	0.1g
S-d	Sacarosa	30 g	30g
	Hidrol. caseína		
	Carbon activado		
pH	pH	5,7	5,7
Agar	agar	7 g	7g

Fuente: Propia




Anexo F. Preparación del medio MURASHIG Y SKOOG (MS) Y ME

PREPARACIÓN DEL MEDIO: MURASHIG Y SKOOG (MS) Y ME	
Pasos	Explicación
1	Determinar la cantidad de medio que se va a preparar de acuerdo a la necesidad y las cantidades de soluciones stock, requeridas para dicha preparación. Documentar la fecha y las cantidades.
2	Se toma una jarra plástica con la capacidad determinada y se echan aproximadamente 3/4 de agua destilada. Se coloca sobre un agitador magnético y se introduce en la jarra un imán, que ayudará a homogenizar la mezcla
3	Se pesan los componentes en polvo (Agar, sacarosa doméstica, mio-inositol, sequestrene) y se añaden al agua todos menos el agar (último compuesto que se echa).
4	Utilizando la pipeta se toman las soluciones stock y se añaden a la mezcla, empleando una punta de pipeta diferente para cada solución.
5	Añadidos todos los componentes, excepto el agar, se vierte el contenido de la mezcla en una o dos probetas con capacidad para la cantidad total de medio, y se completa la mezcla añadiendo agua destilada.
6	Nuevamente se vierte el contenido en la jarra y se procede a medir el pH, siendo ideal el 5.7. En el caso de que el pH sea inferior, lo que ocurre en la mayoría de oportunidades, se ajusta añadiendo gotas de NaOH de concentración 1N y si es superior se utiliza CIH de concentración 1N.
7	Se divide la mezcla en dos recipientes y a una de las partes se añade el agar; dicha mezcla se coloca en el microondas y se deja allí hasta que hierva. Mientras esto pasa se prepara el dispensador y el autoclave.
8	Otra vez se ponen las mezclas juntas en un recipiente y se pone a agitar, mientras se dispensa en los recipientes (frascos de vidrio o plástico y tubos).
9	Se colocan los frascos con la tapa sobre ellos, sin cerrar, en el autoclave (aparato que esteriliza por medio de vapor a presión) durante 20 minutos a 120°C y 1 atmósfera de presión.
10	Transcurrido el tiempo y una vez desciende la presión alcanzada por el autoclave, se cierran los frascos, se sacan cuidadosamente y se dejan en un sitio de baja contaminación hasta el día siguiente. Finalmente se almacenan en un armario protegido de la luz.

Fuente: Propia

Anexo G. Esterilización material de campo a establecer

Pasos	Explicación
1	Determinada la planta que se va a establecer, se limpian las pinzas con agua caliente y posteriormente con alcohol al 70% y se realizan los cortes.
2	El material cortado se coloca en una jarra con agua y se tapa con un material que tenga microporos; se deja correr el agua sobre el recipiente tapado, haciendo un lavado durante 1 hora. De esta manera se limpia la suciedad superficial.
3	Se realiza una preparación de Hipoclorito de sodio o lejía, sustancia que viene de fábrica con cloro activo. La lejía utilizada en el laboratorio tiene 37 g de Cl por litro, no obstante desde su fabricación se presenta evaporación, motivo por el cual se realiza una preparación utilizando para ½ litro, 137 ml de lejía y 363 ml de agua común en una probeta.
4	Transcurrida una hora se quita el agua del lavado y se añade a la jarra con el material cortado la mezcla de lejía, se coloca sobre un agitador magnético y se introduce en la jarra un imán; se deja la mezcla aproximadamente 20 minutos.
5	Pasados los 20 minutos se quita la mezcla del agitador y se pone la lejía en otro recipiente, dejando en la jarra solo el material cortado, éste se lleva a una cabina de flujo laminar, en donde se realiza otro lavado con agua estéril. Para hacer el lavado se vierte el agua destilada en la jarra, agitando con ayuda de la mano; luego se le quita el agua y se vierte nuevamente agua estéril agitando, se deshecha otra vez el agua y se añade nueva, en esta tercera oportunidad se deja el material en el agua y se procede a su corte y establecimiento en medio de cultivo.
6	Finalizado es necesario limpiar todo el material que se utilizó, realizando un primer lavado con agua caliente y tres aclarados más con agua destilada.

 <p>Material vegetal en agua Fuente propia</p>	 <p>Material vegetal con lejía en agitador Fuente propia</p>	 <p>Frascos con agua estéril para lavado Fuente propia</p>
---	---	---

Fuente: Propia

INRA-GF-305

Origen. Procede de una población de «pêche de vigne», seleccionado en 1945 en la estación francesa de La Grande Ferrade, de entre plantas obtenidas de un lote de semillas de Montreuil (Francia).

Morfología. El árbol productor de semillas es vigoroso, muy ramificado y de porte caedizo. Las hojas son de color verde intenso estrechas y ligeramente enrolladas longitudinalmente.

La flor es campanulácea, la floración es tardía así como la maduración del fruto. No es demasiado florífero abundando los botones en los extremos de los ramos.

El fruto es amarillo rojizo, de carne blanca y hueso libre. La semilla es alargada y puntiaguda, entrando unas 250 por kg.

Comportamiento. Induce buen vigor y productividad a las variedades injertadas. Supera a los francos normales en vigor y homogeneidad.

Resistencias. Es relativamente resistente a la sequía, y algo tolerante al nematodo *Pratylenchus vulnus*. Algo menos sensible a la clorosis que los francos normales.

Sensibilidades. Es sensible a *Agrobacterium* y a nematodos *Meloidogyne*; se ha mostrado muy sensible a la asfixia.

Propagación. La producción de semilla por Ha. de árboles de GF-305 suele estar comprendida entre 600 y 1.500 kg.

Las semillas tienen un alto poder de germinación, que se sitúa entre el 70 y 90 %, si se estratifican a 4 °C durante 100-120 días.

Los planteles son muy regulares en desarrollo, aunque bastante ramificados.

Uso y compatibilidad. Es un buen franco a pesar de su sensibilidad a la asfixia.

No se conocen incompatibilidades con las variedades de melocotonero.

Anexo I. Esterilización del equipo

Equipo	Pasos	Explicación
Cámara de flujo laminar	1	Encender la cámara de flujo laminar, al menos 10 minutos antes de iniciar trabajo en ella, y el quemador, hasta que alcance una temperatura superior a los 225°C.
	2	Limpiar la mesa de trabajo de la cámara de flujo laminar utilizando papel y alcohol al 70%.
Pinzas y bisturís	3	Determinar la cantidad de pinzas y bisturís necesarios para manipular el material. Se recomiendan 4 pinzas, una de ellas para sacar las bandejas, y 3 bisturís.
	4	Lavar con agua caliente y jabón las pinzas y bisturís, secar y colocar en el quemador durante 30 s para esterilizar.
	5	Con la mesa y el material esterilizado se organizan las pinzas y bisturís sobre una base metálica, que evita el contacto con la mesa y facilita la manipulación del material
Bandejas	6	Para el manejo del material se utilizan bandejas de cartón, sobre las cuales se realizan los cortes de los brotes. Las bandejas se compran esterilizadas. No obstante en el laboratorio se reciclan, motivo por el cual después de utilizadas se dejan en un sitio hasta que hayan bandejas suficientes.
	7	Las bandejas se organizan en grupos de 10 y se colocan en bolsas con un cierre lo suficientemente libre para que entre vapor.
	8	Se colocan las bolsas en el autoclave durante una hora a una temperatura definida °C
	9	Transcurrida la hora se trasladan las bolsas a una estufa y se dejan allí durante 8 días.
	10	Finalmente cumplido el tiempo se sacan de la estufa, se cierran por completo y se almacenan en un lugar asequible.



Cámara de flujo laminar
Fuente: Propia



Pinzas y bisturís organizados
Fuente: Propia






Quemador con pinzas y bisturís
Fuente: Propia



Bandejas recicladas
Fuente: Propia

Fuente: Propia


Anexo J. Corte del material

Pasos	Explicación
1	Con el equipo esterilizado (pinzas, bisturí, cámara de flujo laminar y bandejas) se toma el material que se va a cortar, ya sea para establecer, multiplicar o enraizar, y los frascos o tubos con el medio que se requiera.
2	Lo primero es marcar los frascos o tubos con el tipo de medio y la fecha, utilizando una maquina etiquetadora.
3	En la cámara de flujo laminar se procede a abrir la bolsa con las bandejas y a sacar una, utilizando una pinza (Esta pinza se puede utilizar para sacar las bandejas durante el periodo que se realizará el subcultivo). La bandeja se dispone frente al investigador para dar inicio a la manipulación del material.
4	Con una pinza se toma la yema, proveniente de la esterilización, frasco o tubo, y se dispone en la bandeja.
5	Se corta el callo, ubicado en el extremo inferior, y se quitan algunas hojas del brote, con la ayuda de un bisturí y la pinza. En el caso del establecimiento es necesario cortar ambos extremos ya que estuvieron en contacto directo con la lejía. En la multiplicación se cortan los brotes que tenga cada yema.
6	La yema cortada se toma con las pinzas y se coloca en el medio (tubo o frasco).
7	Se limpia la bandeja, disponiendo su contenido en la caneca de basura y colocándola para su posterior limpieza a un lado. La pinza y bisturí utilizados para el corte de la yema se esterilizan nuevamente en el quemador durante 30 segundos.
8	Se toma otra pinza, bisturí y bandeja para realizar el mismo proceso. Mínimo tener 3 juegos de pinza y bisturí para permitir el enfriamiento con cada esterilización. Es necesario tener en cuenta que: <ul style="list-style-type: none"> - Establecimiento: Las yemas se disponen individualmente, depende del investigador el cambio de pinzas, bisturí y bandeja. - Multiplicación: Las yemas se disponen en grupos de 4 o 5 por frasco; la pinza, bisturí y bandeja se cambiará después de manipuladas las yemas de un frasco. - Enraizamiento: Las yemas se disponen en grupos de 10 por frasco; la pinza, bisturí y bandeja cambiará cada frasco.
9	Con el total de yemas requerido, cortado y dispuesto en el frasco, se procede a cerrarlo y almacenarlo en la cámara de cultivo.
<div>  <p>Yema a cortar en bandeja Fuente: propia</p> </div> <div>  <p>Yema cortada en bandeja Fuente: propia</p> </div> <div>  <p>Yema cortada en tubo Fuente: propia</p> </div>	


Fuente: Propia

Anexo K. Limpieza de frascos, tubos, tapas y otros recipientes


Pasos	Explicación
1	Primero hay que quitar las etiquetas que tengan los recipientes
2	Quitar la tapa y hacer una limpieza de material vegetal que haya dentro del recipiente, utilizando unas pinzas, sólo debe quedar el medio. En caso de contaminación se deja el recipiente con el material y con la tapa puesta superficialmente.
3	Se ponen los recipientes y las tapas en el autoclave durante 20 minutos a 120°C y 1 atmosfera de presión.
4	Transcurridos los 20 minutos se sacan los recipientes y se observa el agar en forma líquida. Con agua caliente se lavan y se disponen en el lavaplatos para otro lavado con agua destilada. Las tapas se ponen en sobre una superficie en el lavaplatos también.
5	Después del lavado se dejan los recipientes y tapas allí para un mejor secado. Al día siguiente se guardan.
6	Es necesario tener en cuenta el uso de bata y guantes.



Limpieza de recipientes en autoclave
Fuente: Propia



Recipiente después de limpieza en autoclave
Fuente: Propia



Recipiente con material contaminado después de limpieza en autoclave
Fuente: Propia

Fuente: Propia

Anexo L. Ficha de recolección de información bibliográfica de enfoques de Desarrollo sustentable

<p style="text-align: center;">UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES</p> <p>Ficha de recolección de información bibliográfica de enfoques de Desarrollo sustentable en función de la micropropagación</p>
<p>ENFOQUE: Económico</p> <p>Realizar cultivo in vitro, afirma la Academia Mexicana de Ciencias²⁶, permite obtener plantas selectas de forma rápida a partir del establecimiento de partes de la planta, en medios específicos y condiciones ambientales controladas.</p> <p>Además Víctor Chávez²³, investigador adscrito al Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) puso un ejemplo para entender las dimensiones que pueden alcanzar estos procesos: “De una planta de café adulta se pueden obtener cien esquejes, pedazos de tallo, enraizarlos y en 12 meses ya tendríamos una planta. Con el modelo in vitro, a partir de un centímetro cuadrado de hoja, podemos producir cerca de 25 embriones en 6 semanas y en 12 meses tendríamos la planta, es decir, se aumenta la cantidad y se reduce el espacio de reproducción”. De esta forma es posible crear plantas sanas y evitar el gasto de dinero innecesario en plaguicidas, además de que los agricultores aumentarían su productividad. Así, según Forbes²⁷, será posible lograr una política de productividad y competitividad en beneficio de la economía familiar, impulsando el crecimiento económico y por ende elevando el poder adquisitivo.</p> <p>Respecto a las ventajas y beneficios que hay en torno a la biotecnología vegetal, diferentes políticas a nivel mundial motivan su aplicación para mejorar el desarrollo. La política para el desarrollo comercial de la biotecnología a partir del uso sostenible de la biodiversidad de Colombia²⁸ “...tiene como objetivo crear las condiciones económicas, técnicas, institucionales y legales que permitan atraer recursos públicos y privados para el desarrollo de empresas y productos comerciales basados en el uso sostenible de la biodiversidad, específicamente de los recursos biológicos, genéticos y sus derivados”.</p> <p>Beneficiando a empresas públicas y privadas, investigadores y academia, e inversionistas, mediante estrategias como:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mejorar la capacidad institucional para el desarrollo comercial de la biotecnología a partir del uso sostenible de la biodiversidad, específicamente de los recursos biológicos, genéticos y sus derivados: a través del Programa Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación en Biotecnología, Biodiversidad y Recursos Genéticos, que busca dirigir las capacidades de investigación e innovación de universidades, centros de investigación y empresas, promover el desarrollo de bienes y servicios biotecnológicos a partir de la biodiversidad y los recursos genéticos, priorizar la investigación aplicada en biotecnología y establecer e impulsar instrumentos específicos de apoyo al desarrollo biotecnológico y la innovación de este tipo de empresas.

²⁶ ACADEMIA MEXICANA DE CIENCIAS, plantaciones “in vitro”, opción desaprovechada, 2013, <http://www.elinnovador.mx/noticia.php?w=562>, [Consulta: Domingo, 17 de Abril de 2016]

²⁷ FORBES, 10 propuestas del gobierno para aumentar la productividad, 2014, <http://www.forbes.com.mx/10-propuestas-del-gobierno-para-aumentar-la-productividad/>, [Consulta: Domingo, 17 de Abril de 2016]

²⁸ CONPES 3697, Política para el desarrollo comercial de la biotecnología a partir del uso sostenible de la biodiversidad, 2011, <https://www.cbd.int/doc/measures/abs/post-protocol/msr-abs-co-es.pdf>, [Consulta: Lunes, 18 de Abril de 2016]

- Desarrollar un conjunto de instrumentos financieros para atraer inversiones en el desarrollo de empresas de base biotecnológica y productos biotecnológicos basados en el uso sostenible de los recursos biológicos, genéticos y sus derivados de la biodiversidad: El Gobierno aportará recursos para la creación y diseño de los instrumentos financieros y la inversión en fondos de capital, a partir de la factibilidad técnica y financiera de los mismos para la financiación en la etapa temprana mediante el fomento para la creación de fondos de capital semilla en el marco de la Política Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (CONPES 3582) y de las Bases para el Plan Nacional de Desarrollo 2010-2014, el desarrollo de líneas de crédito para innovación tecnológica y el incentivo a la innovación tecnológica para Pymes dedicadas a la biotecnología entre Colciencias y Bancoldex; la ampliación de la cobertura dentro los instrumentos financieros del sector agropecuario existentes para actividades que involucren el uso de la biotecnología para la agroindustria; la promoción de fondos de capital privado que realicen inversiones en empresas de base biotecnológica. Los recursos de fomento para el proceso emprendedor se nutrirán de fuentes como) Fomipyme del MCIT; y Colciencias.
- Estudiar la posibilidad técnica, jurídica y financiera de crear la Empresa Nacional de Bioprospección.

Igualmente, de acuerdo a la Comisión Europea²⁹, en la Unión Europea abordan la agricultura sostenible a través de La Política Agrícola Común (PAC), que ayuda a la agricultura a cumplir los requisitos del desarrollo sostenible, además la política de desarrollo rural de la UE, cuyos programas se aplican a escala nacional y en ocasiones a escala regional, ayuda a incrementar la productividad del sector agrícola, cuidar el entorno natural, estimular la diversificación económica y mejorar la calidad de vida en las zonas rurales. Para ello recurre, por ejemplo, a la inversión en ciencia y tecnología para adoptar muchas formas, desde desarrollar mejores productos fitosanitarios hasta mejorar las prácticas agrícolas.

La experiencia demuestra que la mejor manera de reducir la pobreza y promover el crecimiento consiste en invertir en la agricultura a pequeña escala. Motivo por el cual las principales prioridades políticas en la Unión Europea son aumentar los ingresos de los pequeños agricultores y mejorar la capacidad de las comunidades rurales para resistir catástrofes como las sequías e inundaciones.

Además, según Biocomercio Colombia³⁰, en el contexto del CDB, la Conferencia de las Naciones Unidas sobre Comercio y Desarrollo (UNCTAD) creó la Iniciativa BIOTRADE en 1996, con el objetivo de estimular el comercio y la inversión en recursos biológicos para impulsar el desarrollo sostenible; para ello utiliza 7 principios entre los cuales, en torno al contexto económico, se resaltan: Distribución justa y equitativa de beneficios derivados del uso de la biodiversidad; Sostenibilidad socioeconómica (de gestión, productiva, financiera y de mercado, principios 3 y 4 respectivamente).

Una de los limitantes de esta técnica es que la aplicación comercial de la micropropagación requiere no solo que exista una demanda en el sector agrario que justifique la inversión inicial, sino también según Juan Antonio Marín³¹, una gestión a tres niveles:

“Gestión de la investigación: Capaz de proporcionar una técnica fiable, repetible, y que produzca masivamente plantas de las que el 99% sean útiles y que el 98% se aclimaten con éxito, para que

²⁹ COMISIÓN EUROPEA, Una agricultura sostenible para el futuro que queremos, 2012, http://ec.europa.eu/agriculture/events/2012/rio-side-event/brochure_es.pdf, [Consulta: Domingo, 17 de Abril de 2016]

³⁰ BIOCOCOMERCIO COLOMBIA, Los siete principios del Biocomercio, 2014, < <http://www.biocomerciocolombia.com/index.php/biocomercio-y-mercados-verdes/los-7-principios>>, [Consulta: Domingo, 17 de Abril de 2016]

³¹ MARÍN, Juan Antonio, La micropropagación y la mejora de especies frutales, 1997, Academia de ciencias exactas, físicas, químicas y naturales de Zaragoza.

los fallos no aumenten el precio por planta.

Gestión de la producción de planta in vitro: Con un laboratorio de micropropagación bien dotado que realice una planificación de la producción con arreglo a objetivos (pedidos) y que tenga flexibilidad para resolver los problemas imprevistos.

Gestión de vivero: Para el manejo eficaz de las plantas `producidas, durante los trasplantes a suelo, la aclimatación, la preparación de sustratos, la aplicación de riesgos, de abonados, y de tratamientos para el control de infecciones”.

De acuerdo a Agrobiotecnología³², son estas gestiones, una de las razones para que no existan muchas empresas dedicadas a la micropropagación comercial, ya que resulta más económico reproducir plantas por semilla botánica o por propagación vegetativa (“macropropagación”). La posibilidad de utilizar micropropagación se ve muchas veces limitada por los costos asociados a esta técnica. Algunas estimaciones indican que, si se lograra un 50% de reducción en los costos, la micropropagación masiva podría expandirse 10 veces respecto del volumen actual. Si la reducción de costos alcanzara un 90%, el mercado potencial se tornaría 1.000 veces mayor respecto del actual. Actualmente, la micropropagación masiva se focaliza en las especies que presentan dificultades para su propagación por técnicas convencionales, ya sea por su velocidad de crecimiento, por ser susceptibles a contaminaciones microbianas o fúngicas, por requerir la eliminación de contaminaciones virales o por la necesidad de obtener una gran cantidad de plantas homogéneas en un corto período de tiempo.

Los cultivos homogéneos, pueden ser una ventaja en productividad para el agricultor, y al mismo tiempo una amenaza. Según Martha Mejía³³ “debido a que al tener características iguales, si existiera un evento catastrófico, digamos una sequía o una plaga, y todas las plantas tienen la misma información genética, si una de ellas es susceptible a la sequía o a plagas entonces todas las demás van a ser susceptibles; en cambio, si tenemos diferente información genética dentro de estas plantas habrá algunas que sí van a morir porque serán susceptibles, pero otras van a ser tolerantes y podrán sobrevivir”.

ENFOQUE: Social

Para Calva y Pérez³⁴, debido al incremento de la población mundial la producción de alimentos en cantidad y calidad para satisfacer la demanda es un importante reto para este siglo. Motivo por el cual una de las alternativas para vencer este reto es aumentar el rendimiento y productividad de los cultivos agrícolas, de tal manera que las plantas proporcionen alimentos de buena calidad a costos más bajos, siendo la biotecnología vegetal la alternativa más viable para lograrlo.

Además, de acuerdo a la Comisión Europea³⁵, la agricultura contribuye a la calidad de vida, por ejemplo, al dar empleo y ofrecer condiciones de trabajo razonables. Las condiciones de vida y estructuras sociales de las zonas rurales mejoran, creando así un entorno que resulta igualmente atractivo para el turismo.

Las personas deben tener acceso a alimentos suficientes de buena calidad en cada hogar. La

³² AGROBIOTECNOLOGÍA, Micropropagación comercial: La micropropagación masiva en la práctica comercial, 2011.

³³ MEJÍA, Martha, Preservación de especies “In vitro”, reto de científicos mexicanos, 2015, <http://www.vertigopolitico.com/articulo/29319/Preservacin-de-especies-in-vitro-reto-de-cientificos-mexicanos>, [Consulta: Domingo, 17 de Abril de 2016]

³⁴ CALVA, Graciano y PÉREZ, Josefina, Cultivo de células y tejidos vegetales: fuente de alimentos para el futuro, 2005, http://www.revista.unam.mx/vol.6/num11/art104a/nov_art104a.pdf, , [Consulta: Martes, 29 de Marzo de 2016]

³⁵ COMISIÓN EUROPEA, Una agricultura sostenible para el futuro que queremos, 2012, http://ec.europa.eu/agriculture/events/2012/rio-side-event/brochure_es.pdf, [Consulta: Domingo, 17 de Abril de 2016]

producción agrícola debe contribuir a que los agricultores ganen suficiente para satisfacer sus necesidades alimenticias. De este modo se ayudará a la consecución de los Objetivos de Desarrollo del Milenio, en particular los relativos a la mortalidad infantil, la salud materna y la educación básica, la malnutrición quedando la primera causa de mortalidad infantil. Las mujeres son el puntal de la economía agrícola en los países en desarrollo y desempeñan un papel fundamental en los esfuerzos a favor de la agricultura sostenible; la introducción de cambios adecuados les ofrece una buena oportunidad.

Los pequeños agricultores necesitan una investigación e innovación accesibles, basadas en la demanda y adecuadas a sus necesidades para aumentar la producción de alimentos y desarrollar sistemas agrícolas sostenibles.

“En micropropagación, la embriogénesis y la organogénesis pueden usarse para obtener clones somáticos y regenerar plantas completas con características uniformes y así establecer cultivares de plantas valiosas, libres de microorganismos y difíciles de obtener por métodos de cultivo tradicionales”³⁶. De esta manera los agricultores tendrán plantas homogéneas en tamaño, con alta producción, que ayudará a satisfacer la creciente demanda. No obstante este tipo de métodos son menos aceptados por la sociedad.

De igual manera los principios de Biocomercio, planteados en Biocomercio Colombia³⁷, también tienen en cuenta al pequeño agricultor y a la población, en la búsqueda de que se le respeten sus derechos. Eso se ve reflejado en el principio 6, Respeto de los derechos de los actores involucrados en el Biocomercio; y al principio 7, correspondiente a la Claridad sobre la tenencia de la tierra, el uso y acceso a los recursos naturales y a los conocimientos.

Todo lo anterior siempre en la búsqueda de aumentar la calidad de vida de todos los agentes sociales relacionados con la micropropagación, entendida esta por Somarriba y Pena³⁸ como: “...el fruto de la compleja interacción de una serie de factores objetivos y subjetivos: los primeros hacen referencia a las condiciones externas de tipo económico, sociopolítico, cultural, ambiental... mientras que los factores subjetivos aluden a la percepción del individuo sobre su propia vida y a la satisfacción que alcanza en los distintos ámbitos de la misma”.

ENFOQUE: Natural

De acuerdo al PNUMA³⁹, “Muchas especies de plantas están en peligro de extinción, amenazadas por la transformación del hábitat, la sobreexplotación, las especies extrañas invasoras, la contaminación y el cambio climático. La desaparición de dichos componentes vitales de la diversidad biológica es una de las mayores amenazas a las que se enfrentan los seres humanos”.

³⁶ CALVA, Graciano y PÉREZ, Josefina, Cultivo de células y tejidos vegetales: fuente de alimentos para el futuro, 2005, http://www.revista.unam.mx/vol.6/num11/art104a/nov_art104a.pdf, [Consulta: Martes, 29 de Marzo de 2016]

³⁷ BIOCOCOMERCIO COLOMBIA, Los siete principios del Biocomercio, 2014, <<http://www.biocomerciocolombia.com/index.php/biocomercio-y-mercados-verdes/los-7-principios>>, [Consulta: Domingo, 17 de Abril de 2016]

³⁸ SOMARRIBA, Noelia y PENA, Bernardo, La medición de la calidad de vida en Europa, el papel de la información subjetiva. En: Revista Estudios de Economía Aplicada, 2009, 27 (2). p. 373-396.

³⁹ PROGRAMA DE LAS NACIONES UNIDAS PARA EL MEDIO AMBIENTE (PNUMA), Estrategia Mundial para la Conservación de las Especies Vegetales, 2010, <https://www.cbd.int/iyb/doc/prints/factsheets/iyb-cbd-factsheet-gspc-es.pdf>, [Consulta: Domingo, 17 de Abril de 2016]

La utilización de cultivo in vitro para la conservación de especies también se da en países como México, ya que según Mejía⁴⁰, a través del Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG) tiene un macroproyecto de investigación sobre el resguardo genético forestal del país, el cual “contiene cinco componentes: biofábrica, realización de protocolos de conservación, colección nacional de semillas forestales, análisis de diversidad genética y arboreto”.

La biotecnología vegetal da respuesta a los problemas relacionados con especies vegetales amenazadas, sobre las cuales es necesario tomar medidas, de acuerdo a González⁴¹, de “...recuperación para evitar que desaparezcan de la faz de la tierra y con ellas sus posibles beneficios en todos los campos, desde el aparentemente obvio nivel ambiental hasta el ornamental, industrial o el médico”.

De acuerdo a Cano⁴², en el año 1992 en el marco de la Conferencia de Naciones Unidas sobre Medio Ambiente se firmó la Convención sobre Diversidad Biológica, por el cual a nivel internacional se empezaron a tomar medidas partiendo de las dos estrategias de conservación propuestas: in situ (Incluye la protección de la especie y su hábitat) y ex situ (Preservación de la diversidad genética de cada especie fuera de su hábitat natural). Es así como las herramientas de biotecnología, particularmente el cultivo de células y tejidos in vitro tienen un papel fundamental en la conservación de especies, y entre las técnicas de cultivo in vitro que pueden ser aplicadas a la conservación de especies amenazadas se encuentra la micropropagación, utilizado para investigación, colecciones vivas y para programas de introducción vegetal.

En Colombia como resultado de la Convención sobre la Diversidad Biológica El Ministerio del Medio Ambiente y el Departamento de Planeación Nacional, con el apoyo del Instituto Humboldt, elaboraron y publicaron la Política Nacional de Biodiversidad⁴³, aprobada en 1995. La política se fundamenta en tres estrategias: conservación, conocimiento y utilización sostenible de la biodiversidad. Siendo uno de los lineamientos para la conservación Promover la restauración de ecosistemas degradados y de especies amenazadas, mediante “...el fortalecimiento de programas de conservación ex situ para especies amenazadas, a través de jardines botánicos, viveros, bancos de germoplasma, bancos comunitarios de comunidades campesinas, centros de cría y zoológicos... Estos programas estarán orientados no solamente a la conservación de estas especies y su material genético, sino también al establecimiento de metodologías para su propagación y reproducción con miras a su reintroducción en el medio natural”.

Como instrumento se encuentra la capacitación, educación y divulgación, mediante el fortalecimiento de programas: de formación profesional en biodiversidad, de becas para doctorado de COLCIENCIAS, para el desarrollo de tecnologías mediante la formación de expertos en el campo

⁴⁰ MEJÍA, Martha, Preservación de especies “In vitro”, reto de científicos mexicanos, 2015, <http://www.vertigopolitico.com/articulo/29319/Preservacin-de-especies-in-vitro-reto-de-cientificos-mexicanos>, [Consulta: Domingo, 17 de Abril de 2016]

⁴¹ GONZÁLEZ, Berenice, Cultivos in vitro contra la extinción, 2015, <http://archivo.eluniversal.com.mx/ciencia/2015/cultivo-extincion-102225.html>, [Consulta: Domingo, 17 de Abril de 2016]

⁴² CANO, Miriam, Aplicación de la micropropagación y criopreservación ex situ de especies vegetales de interés, 2013, http://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/35678/1/Tesis_Cano_Castillo.pdf, [Consulta: Lunes, 18 de Abril de 2016]

⁴³ MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE *et al*, Política nacional de biodiversidad, 1995, https://www.minambiente.gov.co/images/BosquesBiodiversidadyServiciosEcosistemicos/pdf/Politica-Nacional-de-Biodiversidad/politica_nacional-biodiversidad.pdf, [Consulta: Lunes, 18 de Abril de 2016]

técnico y científico, de cooperación técnica con entidades de investigación internacionales.

El uso de biotecnología vegetal sin un control de dispersión, puede llegar a generar problemas en la sociedad, principalmente si la productividad y extensión agrícola se limita a una sola especie vegetal (Monocultivos), cuyos impactos negativos incluyen, de acuerdo a Altieri⁴⁴, incluyen desde una perspectiva ecológica, la alta vulnerabilidad de sistemas ecológicamente artificializados y genéticamente homogéneos al cambio climático y a la invasión de plagas y enfermedades. Parte de la baja resiliencia a eventos climáticos y la alta susceptibilidad a las plagas de los agroecosistemas está ligada a los monocultivos. Por un lado, la simplificación del hábitat ha reducido las oportunidades ambientales para los enemigos naturales, interfiriendo en el control biológico y permitiendo así la frecuente explosión de plagas. Por otra parte, los monocultivos homogéneos carecen de mecanismos de compensación o de resiliencia frente a eventos climáticos extremos (sequías, huracanes, etc.).

Hoy los monocultivos industriales no sólo han reducido la biodiversidad del paisaje vía la deforestación sino también por los impactos directos de los pesticidas sobre una variedad de organismos como polinizadores, enemigos naturales de plagas, y vida silvestre en general.

Fuente: Propia

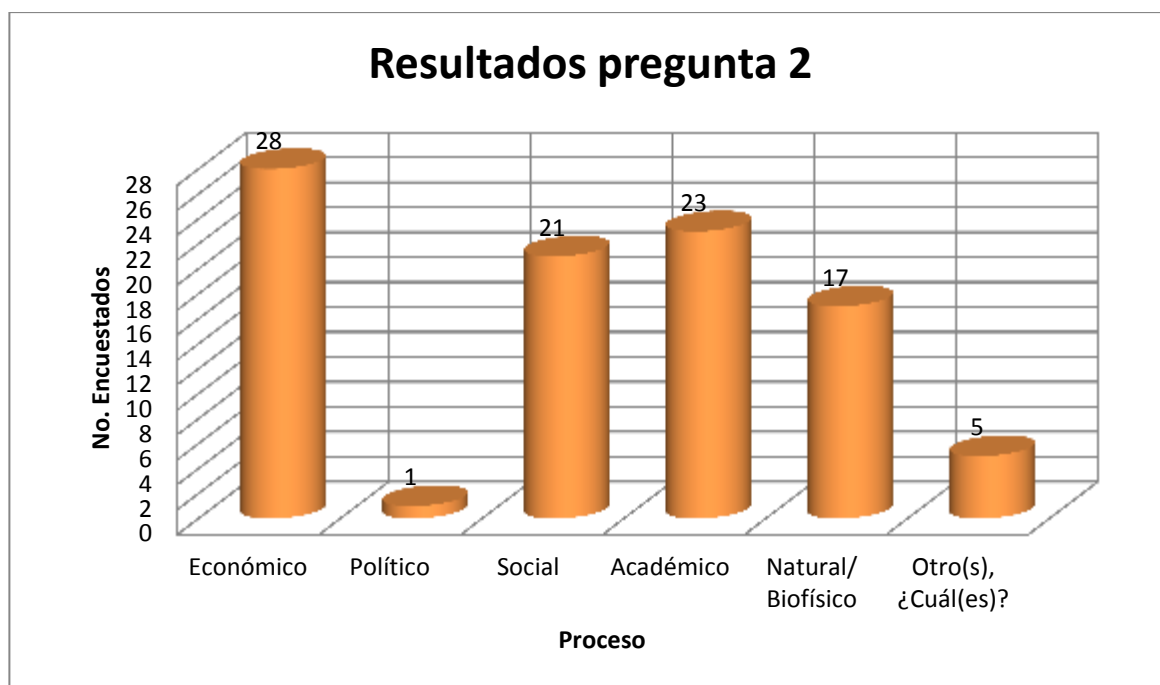
Anexo M. Resultados cuestionarios cerrados, objetivo 3.

Pregunta 1: Considera el uso del cultivo in vitro, una biotecnología vegetal de tipo=	
Positiva	30
Negativa	1



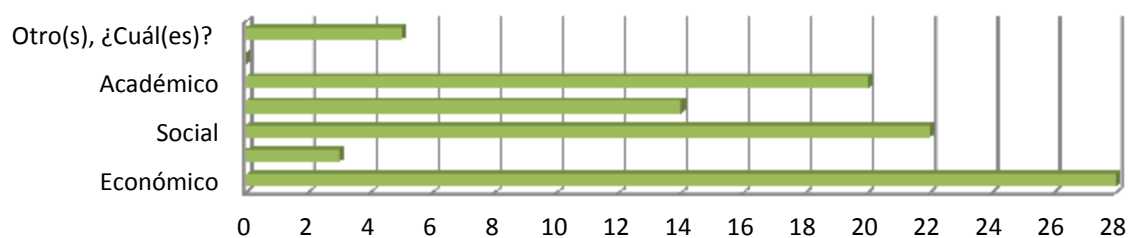
⁴⁴ ALTIERI, Miguel, Desiertos verdes: monocultivos y sus impactos sobre la biodiversidad, 2009. Berkeley

Pregunta 2: Los factores que motivan la realización de cultivo in vitro, se relacionan con procesos de tipo (Puede seleccionar más de una opción)=	
Económico	28
Político	1
Social	21
Académico	23
Natural/ Biofísico	17
Otro(s), ¿Cuál(es)?	5
Sanitario, Desarrollo, Conservación	



Pregunta 3: La implementación del cultivo in vitro da solución a problemas de tipo (Puede seleccionar más de una opción)=	
Económico	28
Político	3
Social	22
Natural/biofísico	14
Académico	20
No da soluciones	0
Otro(s), ¿Cuál(es)?	5
Conservación, micropropagación	

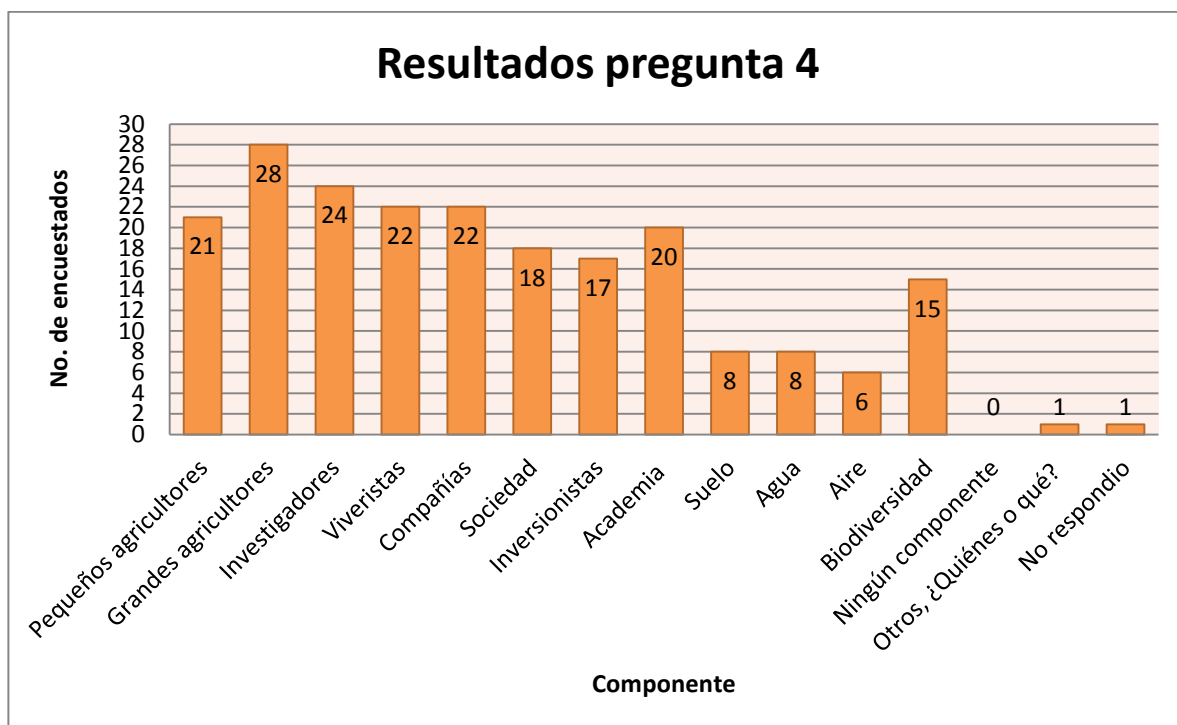
Resultados pregunta 3



	Económico	Político	Social	Natural/biofísico	Académico	No da soluciones	Otro(s), ¿Cuál(es)?
■ No. De encuestados	28	3	22	14	20	0	5

Pregunta 4: ¿Quiénes y/o qué componentes se ven beneficiados por la implementación de prácticas de cultivo in vitro? (Puede seleccionar más de una opción):

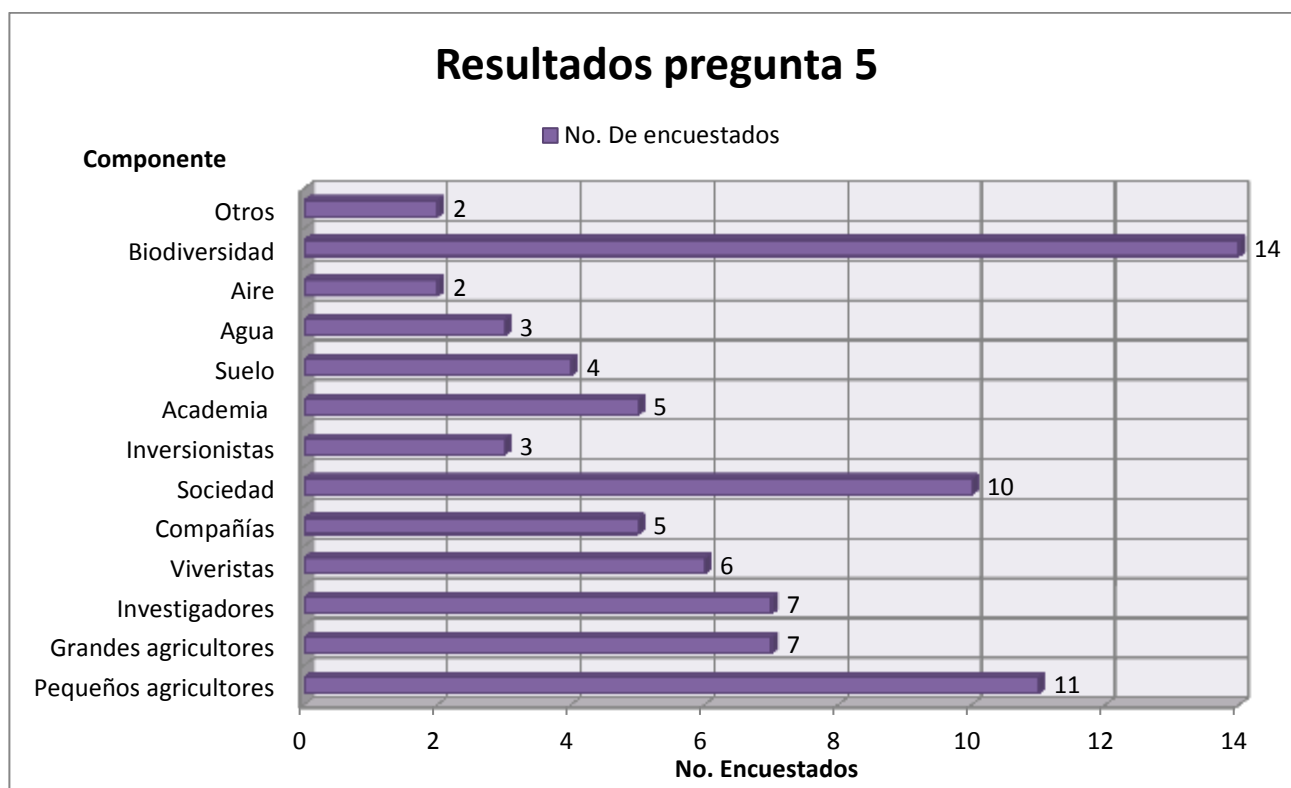
Pequeños agricultores	21
Grandes agricultores	28
Investigadores	24
Viveristas	22
Compañías	22
Sociedad	18
Inversionistas	17
Academia	20
Suelo	8
Agua	8
Aire	6
Biodiversidad	15
Ningún componente	0
Otros, ¿Quiénes o qué?	1
	Agronegocio
No respondió	1



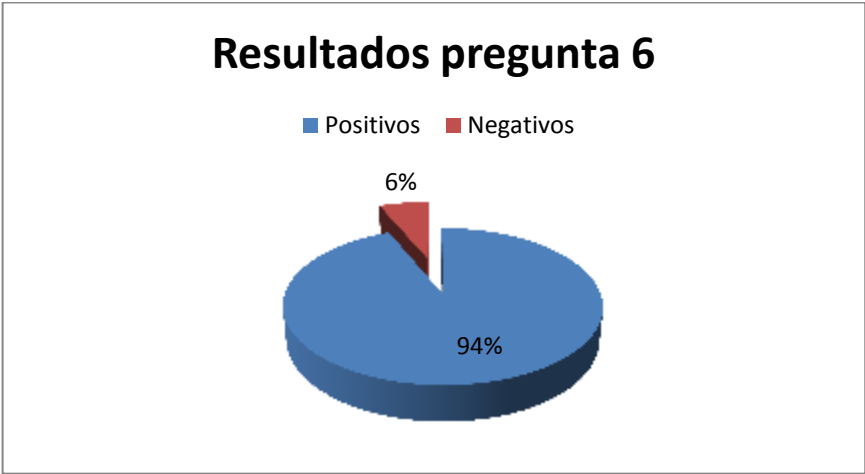
Pregunta 5: ¿Considera usted que hay afectados al realizar prácticas de cultivo in vitro? (Incluye factores asociados tanto al recurso humano como al natural)=	
Si	15
No	15



Si la respuesta es afirmativa, ¿Quiénes y/o qué componentes se ven afectados por la implementación de prácticas de cultivo in vitro? (Puede seleccionar más de una opción)=	
Pequeños agricultores	11
Grandes agricultores	7
Investigadores	7
Viveristas	6
Compañías	5
Sociedad	10
Inversionistas	3
Academia	5
Suelo	4
Agua	3
Aire	2
Biodiversidad	14
Otros, ¿Quiénes o qué?	2
Comunidades, marco normativo	



Pregunta 6: Los impactos asociados a la implementación de técnicas de cultivo in vitro son en su mayoría:	
Positivos	30
Negativos	2



Fuente: Propia